

能量调控下草莓果实衰老过程中 活性氧与超微弱发光的关系

南海风¹, 刘欢², 白杨², 闫宇彤², 任鹏达², 郭金丽²

(1. 内蒙古建筑职业技术学院 建筑与规划学院, 内蒙古 呼和浩特 010070;

2. 内蒙古农业大学 农学院, 内蒙古 呼和浩特 010018)

摘 要:以‘红颜’草莓果实为试材, 采用呼吸链解偶联剂 2,4-二硝基苯酚(DNP)和三磷酸腺苷(ATP)处理草莓果实, 以蒸馏水浸泡为对照, 对比分析抑制能量生成和增加能量条件下草莓果实衰老过程中超微弱发光(ultraweak photon emissio, UPE)和活性氧的变化及二者之间的关系。结果表明:在草莓果实采后衰老过程中, DNP 处理、ATP 处理和对照的超氧阴离子(O_2^-)产生速率、丙二醛(MDA)含量和相对电导率均持续上升;同时三者的 UPE 强度均整体下降。在整个果实衰老过程中, DNP 处理的 O_2^- 产生速率、MDA 含量和相对电导率均高于对照, ATP 处理后三者均低于对照。相关性分析也表明, UPE 强度与活性氧水平呈显著负相关。由以上结果可见, 抑制 ATP 生成情况下加剧了草莓果实活性氧上升积累, 同时加剧了 UPE 强度下降;增加 ATP 则减缓了活性氧上升积累, 同时减缓了 UPE 强度下降。UPE 强度随着活性氧的增加积累而下降。以上结果表示活性氧并不是引发 UPE 的直接来源, 而是间接影响了 UPE。

关键词:草莓果实;衰老;能量调控;超微弱发光;活性氧

中图分类号:S 668.401 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2017)20-0067-05

生物的发光除了由生物体内专门的体系发出的光称为“功能化学发光”和受辐射诱导的光诱导发光称为荧光外, 还有由代谢反应而引起的发光, 即与生物体内代谢过程相联系的超微弱发光(ultraweak photon emission, UPE; ultraweak luminescence, UWL)。1923 年前苏联细胞生物学家最早在“洋葱实验”中发现了 UPE 现象^[1], 任何

生物组织或细胞在生命活动的代谢过程中, 都自发地辐射出一种极其微弱的光子流, 其强度仅为在 1 s 内 1 cm² 上几个至几千个光子($10^0 \sim 10^3 \text{ hv} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$), 波长范围为 180~800 nm。研究表明, UPE 与生物机体的细胞内和细胞间的信息传递、氧化代谢、光合作用以及生长过程均有内在联系^[2-3]。

UPE 自 20 世纪 90 年代以来进入到农业领域, 仅有的极少数 UPE 在农业领域中的研究主要涉及 UPE 与植物种子生活力的关系、UPE 与植物的抗逆性、UPE 与果实品质的关系等方面的研究^[4-9]。在已进行的 UPE 与植物的研究中, 多数研究均集中在 UPE 与植物生长发育的关系上, 远未涉及深层次的研究, 如 UPE 的产生来源。生物化学的观点认为, UPE 有可能来自于活

第一作者简介:南海风(1983-), 女, 硕士, 讲师, 现主要从事园林园艺植物栽培与应用等研究工作。E-mail: 2106-2884@qq.com.

责任作者:郭金丽(1972-), 女, 博士, 副教授, 现主要从事园艺植物生理和栽培及植物超微弱发光等研究工作。E-mail: guojinli1111@163.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31260455)。

收稿日期:2017-06-22

性氧发光、DNA 发光和能量转换发光几个方面^[10],但目前并无充分的试验证实以上观点,有待于研究验证。

草莓(*Fragaria ananassa* Duch.)是典型的非跃变型果实,果实成熟后极易衰老与腐烂。有关草莓果实衰老生理的研究很多,活性氧积累是促进草莓果实衰老的一个重要因素^[11-12]。

最近有研究认为园艺作物采后衰老和品质劣变也受能量水平调节^[13-14]。在非跃变型草莓果实成熟衰老中 UPE 表现如何,在果实成熟衰老过程中的 UPE 现象中,活性氧究竟起什么作用,这些问题的研究尚鲜见报道。在前期试验已探明能量与草莓果实衰老有关(未发表数据),且在前期已进行草莓果实自然衰老过程中的 UPE 和活性氧变化研究的基础上,进一步研究促进和抑制能量生成条件下果实衰老过程中 UPE 和活性氧的变化,进一步探讨 UPE 与活性氧的关系。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以‘红颜’草莓为试材,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同一温室内,环境条件及管理均一致,待草莓果实成熟时一次性采收进行试验。

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,进行如下处理。分别以 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ DNP 和 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ATP 浸泡,以蒸馏水浸泡作为对照,处理时间为 30 min。每处理 100 个果实,重复 3 次。捞出果实,于阴凉通风处晾干,装入保鲜袋常温贮藏,之后每 1 d 取一次样进行试验测定,共测 6 d。每次取样后一部分立即进行 UPE 的测定;另一部分将果肉剪碎混合均匀,用液氮速冻,于 -80°C 保存。

1.3 项目测定

UPE 的测定采用北京建新力拓科技有限公司生产的超微弱发光测试系统(BPCL-2-SH 型)。测试前先开机预热 30 min,随机选取 10 个草莓,用直径 1 cm 的打孔器取 1.5 cm 高的果肉,迅速

放入仪器暗室测量杯内测定,共测 10 次,减去本底取平均值,即为草莓果肉的最终发光强度。 O_2^- 产生速率的测定参考李玲^[15]和孙群等^[16]的方法,丙二醛(MDA)含量、相对电导率的测定均采用李合生^[17]的方法。

1.4 数据分析

采用 Excel 统计软件制作图表,采用 SPSS 软件进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 能量调控下草莓果实衰老过程中活性氧的变化

草莓果实采后衰老过程中,DNP 处理、ATP 处理和对照的 O_2^- 产生速率均持续上升。在整个果实衰老过程中,DNP 处理的 O_2^- 产生速率基本高于对照,ATP 处理的 O_2^- 产生速率均低于对照(图 1)。草莓果实采后衰老过程中,DNP 处理、ATP 处理和对照的 MDA 含量和相对电导率均持续上升。在整个果实衰老过程中,DNP 处理的 MDA 含量均高于对照,ATP 处理的 MDA 含量均低于对照(图 2)。DNP 处理的相对电导率衰老后期高于对照,ATP 处理的相对电导率衰老后期低于对照(图 3)。以上能量调控下活性氧系统的变化说明,在草莓果实采后衰老过程中,与对照相比,抑制 ATP 生成加剧了果实衰老过程中活性氧积累和膜脂过氧化程度;增加 ATP 则减缓了果实衰老过程中活性氧爆发和膜脂过氧化程度。

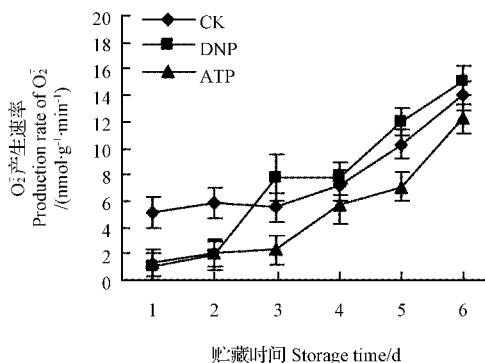


图 1 能量调控下果实衰老过程中 O_2^- 产生速率的变化

Fig. 1 Variation of production rate of O_2^- under regulation of energy in aging strawberry fruit

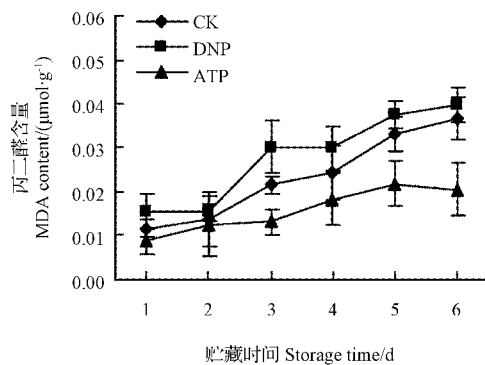


图2 能量调控下果实衰老过程中MDA含量的变化

Fig. 2 Variation of MDA content under regulation of energy in aging strawberry fruit

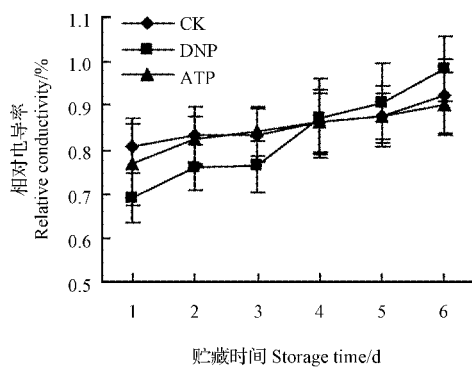


图3 能量调控下果实衰老过程中相对电导率的变化

Fig. 3 Variation of relative conductivity under regulation of energy in aging strawberry fruit

2.2 能量调控下草莓果实衰老过程中超微弱发光的变化

草莓果实采后衰老过程中,DNP处理的UPE强度持续下降,对照先升高后下降,整体呈下降趋势,ATP处理的UPE强度先上升后下降,整体上升;贮藏结束时DNP处理的果实UPE下降了74.25%、对照下降了49.57%,ATP处理的下降了16.24%。在整个果实衰老过程中,DNP处理的UPE强度均低于对照,ATP处理的UPE强度均高于对照(图4)。说明抑制ATP生成加剧了果实UPE强度下降,增加ATP则明显减缓了果实UPE强度下降。

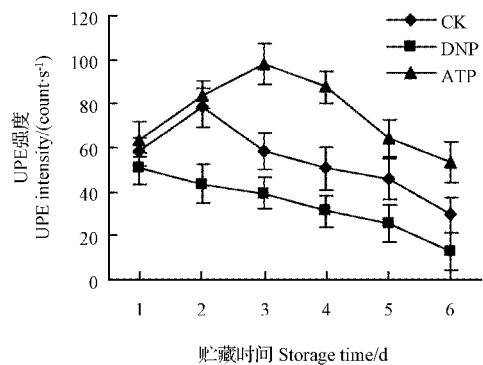


图4 能量调控下果实衰老过程中UPE强度的变化

Fig. 4 Variation of UPE intensity under regulation of energy in aging strawberry fruit

2.3 能量调控下草莓果实衰老过程中超微弱发光与活性氧的关系

草莓果实衰老过程中,DNP处理果实加剧了活性氧上升积累,同时加剧了UPE强度下降,UPE强度低于对照;ATP处理果实减缓了活性氧积累,提高了UPE强度,UPE强度高于对照。对照的UPE强度与MDA含量、 O_2^- 产生速率、相对电导率呈显著负相关;DNP处理的UPE强度与相对电导率、 O_2^- 产生速率、MDA含量呈极显著负相关;ATP处理的UPE强度与MDA含量、 O_2^- 产生速率、相对电导率呈显著负相关。以上能量调控下UPE与活性氧的相关性分析说明,草莓果实衰老过程中,UPE强度随着活性氧的积累而下降(表1)。

3 讨论与结论

目前,有关植物生长发育与UPE的关系尚未清晰,植物中UPE的产生来源问题更是仅局限于猜想和假设。UPE有可能来自于活性氧发光为其中的一种假设,活性氧观点猜测不饱和脂肪酸经氧化后产生的活性氧之间的相互作用,形成的各种可辐射的活化状态,可能作为UPE的来源之一^[18]。依据UWL发生可能来自于活性氧的假设,活性氧的增加和积累应该有助于UWL强度的增强,活性氧积累越多,UWL强度越强。就活性氧观点方面进行了一些零星的探索

表1 能量调控下草莓果实 UPE 与活性氧的相关分析
Table 1 Correlation analysis between UPE intensity and active oxygen level by regulating energy

处理 Treatment	活性氧 Active oxygen system	回归方程 UPE regression equation	相关系数 R Correlation coefficient R
CK	MDA	$Y = -1\ 100.016X_1 + 84.481$	-0.866
	$O_2^{\cdot-}$	$Y = -3.911X_2 + 84.67$	-0.844
	相对电导率	$Y = -330.672X_3 + 336.011$	-0.829
DNP	相对电导率	$Y = -121.179X_4 + 134.15$	-0.990
	$O_2^{\cdot-}$	$Y = -2.348X_5 + 51.424$	-0.960
	MDA	$Y = -1\ 169.216X_6 + 66.458$	-0.911
ATP	$O_2^{\cdot-}$	$Y = -4.134X_7 + 102.721$	-0.936
	MDA	$Y = -2\ 885.317X_8 + 127.036$	-0.813
	相对电导率	$Y = -290.539X_9 + 327.25$	-0.754

注:Y 表示 UPE 强度, $X_1 \sim X_9$ 为对应活性氧水平。

Note: Y mean UPE intensity, $X_1 - X_9$ for corresponding active oxygen level.

性试验。如张菊平等^[10]发现,当植物处于各种污染环境时,细胞或组织中的活性氧代谢增强,导致 UPE 增强;张新华等^[19]研究发现,杏(*Armeniaca vulgaris* Lam)盛花期后,超氧阴离子 $O_2^{\cdot-}$ 产生速率与 MDA 含量迅速升高,而 UPE 强度下降,认为杏花的 UPE 受体内活性氧影响。由现有的研究可见,有关植物 UWL 与活性氧的关系还未明确。

课题组前期研究了草莓果实自然衰老过程中 UPE 和活性氧的变化及二者之间的关系^[20-21],结果发现在果实采后衰老过程中,UPE 强度随着活性氧的增加积累而下降。该试验在前期试验的基础上,研究了采用呼吸链抑制剂 DNP 处理和外源 ATP 处理对草莓果实衰老过程中 UPE 和活性氧的影响,发现在草莓果实采后衰老过程中,DNP 处理、ATP 处理和对照的果实活性氧水平均上升积累,而 UPE 强度下降;DNP 处理加剧了活性氧积累和 UPE 强度下降,ATP 处理则缓减了活性氧积累,同时提高了果实 UPE 强度。

综合前期试验和该试验结果,在草莓果实衰老过程中活性氧均上升积累而 UPE 强度下降;与对照相比,抑制 ATP 生成加剧了果实衰老过程中活性氧的上升积累,同时加剧了 UPE 强度下降,增加 ATP 则缓减了果实衰老过程中活性氧的增加积累,同时缓减了 UPE 强度下降。以上结果暗示 UPE 强度随着活性氧增加积累而下降,活性氧并不是 UPE 的直接来源,即不可能是活性氧之间的相互作用形成可辐射的活化状态从而产生 UPE。活性氧与 UPE 的关系有可能是活

性氧通过影响其它细胞结构或物质代谢从而影响了 UPE,还有待于进一步试验来研究证实。

参考文献

- [1] GURWITSCH A. Die natur des spezifischen erregers der zellteilung[J]. Archiv für mikroskopische Anatomie und Entwicklungsmechanik, 1923, 100(1): 11-40.
- [2] POPP F A, LI K H, GU Q. Recent advances in biophoton research and its applications[M]. World Scientific Pub Co Inc, 1992: 1-46.
- [3] 袁佐清. 生物超微弱发光研究进展[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(8): 3092-3094.
- [4] 胡献明, 潘建伟, 陈虹, 等. 铝胁迫诱导大麦根尖细胞超微弱发光的变化[J]. 浙江大学学报, 2002, 28(4): 383-386.
- [5] 侯仙慧, 廖祥儒, 李颖, 等. 苋菜种子萌发过程的超微弱发光及其机理研究[J]. 种子, 2004, 23(7): 23-27.
- [6] 刘红梅, 廖祥儒, 吴立峰, 等. 热休克对小麦未成熟种子萌发、生物发光和抗氧化酶活性的影响[J]. 食品与生物技术学报, 2006, 25(3): 75-78.
- [7] 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): 1819-1824.
- [8] YU Y, WANG J. Ultraweak bioluminescence and vigour of irradiated rice[J]. Int J Agric & Biol Eng, 2010, 3(1): 85-90.
- [9] 赵丹莹, 生吉萍, 丁洋, 等. 超微弱发光用于番茄果实冷害发生程度的无损监测[J]. 光谱学与光谱分析, 2010, 30(9): 2493-2495.
- [10] 张菊平, 张兴志, 巩振辉. 超微弱发光在蔬菜研究中的应用[J]. 中国农学通报, 2006, 22(1): 220-222.
- [11] 樊秀彩, 关军锋, 张继澍, 等. 草莓采后微粒体膜 Ca^{2+} -ATPase 活性与膜脂过氧化水平[J]. 园艺学报, 2003, 30(1): 15-18.
- [12] 陈学红, 郑永华, 杨震峰, 等. 高氧处理对草莓果实采后活性氧代谢和腐烂的影响[J]. 南京农业大学学报, 2005, 28(1): 99-102.

- [13] GUAN J,GAO M,FAN X,et al. The relationship between maturation and senescence of strawberry fruit and Ca^{2+} , CaM , Ca^{2+} -ATPase and activate oxygen metabolism[J]. Scientia Agricultura Sinica,2002,35(11):1385-1389.
- [14] 陈文烜,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.
- [15] 李玲. 植物生理学模块实验指导[M]. 北京:科学出版社,2009.
- [16] 孙群,胡景江. 植物生理学研究技术[M]. 杨凌:西北农林科技大学出版社,2006.
- [17] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2004.
- [18] 张新华,杨洪强. 植物叶绿体和线粒体的超微弱发光[J]. 植物生理学通讯,2004,40(1):111-114.
- [19] 张新华,杨洪强,李富,等. 杏花开放过程中超弱发光和ATP及活性氧含量的变化[J]. 植物生理与分子生物学报,2004,30(1):41-44.
- [20] 刘欢,朱冠宇,梁爽,等. 草莓果实采后衰老过程中果实品质及超微弱发光的变化[J]. 北方农业学报,2016,44(3):29-32.
- [21] 郭金丽,朱冠宇,刘艳,等. 草莓果实衰老过程中超微弱发光的变化及与活性氧的关系[J]. 北方园艺,2016(11):1-4.

Relationship Between Ultraweak Photon Emission and Reactive Oxygen Under Regulating Energy in Ageing Process of Strawberry Fruit

NAN Haifeng¹, LIU Huan², BAI Yang², YAN Yutong², REN Pengda², GUO Jinli²

(1. Department of Architecture and Planning, Inner Mongolia Technical College of Construction, Hohhot, Inner Mongolia 010070; 2. College of Agronomy, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot, Inner Mongolia 010018)

Abstract: The study aimed to understand the change of ultraweak photon emission(UPE) and reactive oxygen, and the relationship between UPE and reactive oxygen by soaking fruit with 2,4-dinitrophenol (DNP) and adenosine triphosphate(ATP) in ageing process of ‘Hongyan’ strawberry fruit. The results showed that, during fruit ageing process, superoxide anion radical (O_2^-) production rates, malondialdehyde (MDA) content and relative electric conductivity increased continuously under three treatments of ATP, DNP and CK. Meanwhile UPE intensity of three treatments decreased. Furthermore, in whole ageing process, O_2^- production rate, MDA content and relative electric conductivity of DNP treatment were all higher than that of CK but UPE intensity was lower than that of CK. While O_2^- production rate, MDA content and relative electric conductivity of ATP treatment were all lower than that of CK but UPE intensity was higher than that of CK. Correlation analysis showed that UPE intensity had a significantly negative correlation with reactive oxygen level. Above results stated that inhibiting ATP intensified the accumulation of reactive oxygen and meanwhile intensified the decline of UPE intensity. However, increasing ATP relieved the accumulation of reactive oxygen and the decline of UPE intensity. UPE intensity declined along with the accumulation of reactive oxygen. The results indicated that reactive oxygen was not the direct source for UPE but could effect UPE indirectly.

Keywords: strawberry fruit; ageing; regulating energy; ultraweak photon emission; reactive oxygen