

# 能量对香石竹切花在瓶插期间呼吸电子途径的影响

宋丽丽<sup>1,2</sup>, 蒋跃明<sup>2\*</sup>, 李长涛<sup>3</sup>, 刘海<sup>2</sup>,  
尤艳莉<sup>2</sup>, 易春<sup>2</sup>, 徐志防<sup>2</sup>

(1. 浙江省农业科学院食品研究所, 杭州 310021; 2. 中国科学院华南植物园, 广州 510650; 3. 浙江省林业种苗管理总站, 杭州 310020)

**摘要:** 采用外加 0.1 mmol/L ATP 或 0.5 mmol/L 二硝基苯酚(DNP)的方法,研究了香石竹(*Dianthus caryophyllus* L.)切花在 25 ± 1℃ 和 80% ~ 90% 相对湿度下瓶插期间呼吸电子传递途径的变化情况。结果表明,香石竹切花在瓶插 7 d 时的呼吸速率达到高峰;ATP 处理明显加快切花的呼吸速率,在瓶插 7 d 时呼吸速率高峰值较对照(未用 ATP 处理)升高 1 倍。细胞色素途径与总呼吸活性存在显著正相关。细胞色素途径占总呼吸的比重在切花瓶插 4 d 后上升,并且线粒体电子传递主要依靠细胞色素主路途径进行。经 ATP 处理后香石竹切花的交替呼吸途径的容量、实际运行活性和运行系数明显增加;交替呼吸途径占总呼吸活性比重在瓶插 4 d 后迅速上升,并且交替呼吸途径容量与总呼吸活性存在显著正相关。而 DNP 处理则降低交替呼吸途径容量。这说明外源 ATP 处理加强了香石竹切花在整个瓶插期间的呼吸作用,增加了呼吸速率的高峰值,提高了抗氰呼吸作用。

**关键词:** 能量;香石竹;切花;瓶插;呼吸途径

中图分类号: Q945.19

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2008)03-0219-06

## Effect of Energy Supply on Respiratory Electron Transport Pathways during Vase Holding of Cut Carnation Flowers

SONG Li-li<sup>1,2</sup>, JIANG Yue-ming<sup>2\*</sup>, LI Chang-tao<sup>3</sup>, LIU Hai<sup>2</sup>,  
YOU Yan-li<sup>2</sup>, YI Chun<sup>2</sup>, XU Zhi-fang<sup>2</sup>

(1. Food Institute, Zhejiang Academy of Agriculture Sciences, Hangzhou 310021, China;

2. South China Botanical Garden, the Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China;

3. Forest Seedlings Station of Zhejiang Province, Hangzhou 310020, China)

**Abstract:** To well understand the role of energy in respiratory electron transport pathways during senescence of plant tissues, cut carnation flowers were treated with 0.1 mmol/L ATP or 0.5 mmol/L dinotrophenol (DNP) and then held at 25 ± 1℃ and 80% ~ 90% relative humidity. A climacteric peak of respiration rate appeared at the 7<sup>th</sup> day of vase life. ATP treatment enhanced the respiration rate. Furthermore, a linear relationship existed between cytochrome respiration and total respiration. The contribution from the cytochrome respiration pathway to the total respiration increased after 4 days of vase holding, which indicated that the electron transport depended mainly on the cytochrome respiration pathway. Treatment with ATP increased the capacity, operative activity and operation coefficient of the alternative respiration pathway, and the ratio of the alternative respiration pathway to the total respiration increased after 4 days of vase holding with a significant linear relationship between the alternative respiration pathway capacity and the total respiration. DNP treatment reduced the alternative respiration pathway capacity. These results suggested that the addition of ATP to vase solution enhanced total respiration throughout the whole vase holding and increased the alternative respiration pathway capacity.

**Key words:** Energy; Carnation; Cut flowers; Vase holding period; Respiratory pathway

能量是生命活动的基础,在植物生长发育的各种生理活动中起着重要作用,如果实膨大<sup>[1]</sup>、胞质败育<sup>[2]</sup>、种子萌发<sup>[3]</sup>、胁迫响应<sup>[4-7]</sup>、开花<sup>[8]</sup>以及果实成熟、衰老<sup>[9]</sup>等。有研究表明,在瓶插液中添加ATP有助于延长香石竹(*Dianthus caryophyllus*)切花的瓶插寿命,并提高观赏品质<sup>[10]</sup>。

呼吸作用是提供植物生理活动所需能量的基本过程。植物组织存在细胞色素途径、抗氰呼吸等多条呼吸代谢途径<sup>[11-13]</sup>;其中,抗氰呼吸途径是氧化磷酸化解耦联散热途径,受植物内部多种因素和外环境条件所诱导,影响着组织的能量产生和供给<sup>[13]</sup>。Huang和Roman<sup>[11]</sup>报道,在鳄梨(*Persea americana*)果实组织的悬浮细胞中加入ATP,可增加线粒体活性,提高呼吸作用,延迟细胞衰老。香石竹采切后易于衰老,花瓣迅速衰败和枯萎。目前,关于能量是否影响到香石竹切花在瓶插期间的呼吸作用及其途径并不清楚。

本研究探讨了香石竹切花在瓶插过程中呼吸电子传递途径的变化及ATP和呼吸解耦联剂二硝基苯酚(DNP)处理的效应,旨在为进一步揭示能量调控植物衰老的生理生化机制提供理论基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

供试材料为“马萨特”香石竹(*Dianthus caryophyllus* L. ‘Master’),购自广州市岭南花卉中心,为当天从云南空运来的新鲜花枝。切花茎端浸于水中过夜,次日再进行处理。选取花蕾期花苞大小基本一致、无病虫害的香石竹切花,在水中斜剪至长度约30 cm,插入装有约70 ml瓶插液的150 ml三角瓶中,每隔2 d换一次瓶插液。

### 1.2 试验处理

试验设置3个处理:对照(去离子水)、0.1 mmol/L ATP(Ameresco公司分装)和0.5 mmol/L DNP。ATP和DNP均用去离子水配制。每个处理12个重复。切花置于自然散射光条件下温度为 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 和相对湿度为80%~90%的人工控制室内,每2 d进行取样测定。

### 1.3 呼吸电子传递途径的测定

称取切花外层花瓣0.5 g,剪成1~2 mm大小,减压抽滤1~2 min,用Clark氧电极测定呼吸耗氧速率,其中反应介质为20 mmol/L磷酸钾缓冲液

(pH 6.8)。细胞色素途径、交替途径抑制剂分别为0.5 mmol/L KCN和3 mmol/L水杨基氧胍酸(SHAM)。测定温度为 $25^\circ\text{C}$ 。

呼吸速率与呼吸参数按Binham和Farrar方法<sup>[12]</sup>进行并计算:无呼吸抑制剂时为总呼吸活性(Vt),同时加入KCN和SHAM测得为剩余呼吸(Vres);仅加入KCN时的总呼吸活性减去剩余呼吸为交替途径容量(Valt),而总呼吸活性减去仅加入SHAM的呼吸活性为交替途径实际运行活性( $\rho\text{Valt}$ );仅加入SHAM时的呼吸活性减去剩余呼吸得细胞色素主路活性( $\rho'\text{Vcyt}$ ),细胞色素主路活性除以总呼吸活性为细胞色素途径对总呼吸的贡献( $\rho'\text{Vcyt}/\text{Vt}$ );交替途径实际运行活性除以总呼吸活性即得交替途径对总呼吸活性的贡献( $\rho\text{Valt}/\text{Vt}$ ),而交替途径的运行活性与容量的比值为交替途径运行系数( $\rho$ 值)。

### 1.4 数据处理

使用Excel 2003进行数据统计和差异显著性分析。表中数据为3次重复的平均值和标准误。

## 2 结果和分析

### 2.1 ATP处理对细胞色素呼吸途径的影响

香石竹切花在瓶插过程中呼吸速率发生了明显的变化。对照处理在瓶插前4 d的呼吸速率上升比较缓慢,第7天出现呼吸高峰,呼吸速率达 $29.55 \mu\text{mol O}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ FW}$ ,随后下降,此时切花出现花瓣卷曲、萎蔫等衰老症状。ATP处理在切花整个瓶插期间呼吸速率明显增加,7 d时的呼吸速率高峰值较对照升高1倍,但呼吸速率高峰值出现的时间相同(图1A);此时切花的外层花瓣出现轻微失水萎蔫,但仍有观赏价值。

由图1B看出,香石竹切花在瓶插期间细胞色素呼吸途径的变化与总呼吸的变化趋势基本相一致。经相关分析,细胞色素呼吸途径与总呼吸活性存在显著正相关( $y = 1.7891x + 6.0603, r = 0.9013$ )。经ATP处理的香石竹切花的细胞色素主路呼吸活性变化趋势与对照相似,瓶插7 d时较对照增加了32.5%。

### 2.2 ATP对交替呼吸途径的影响

香石竹切花在瓶插过程中交替呼吸途径容量和实际运行量的变化基本一致,都是在瓶插第2天缓慢上升,然后下降,至第7天又略微增加,最后下

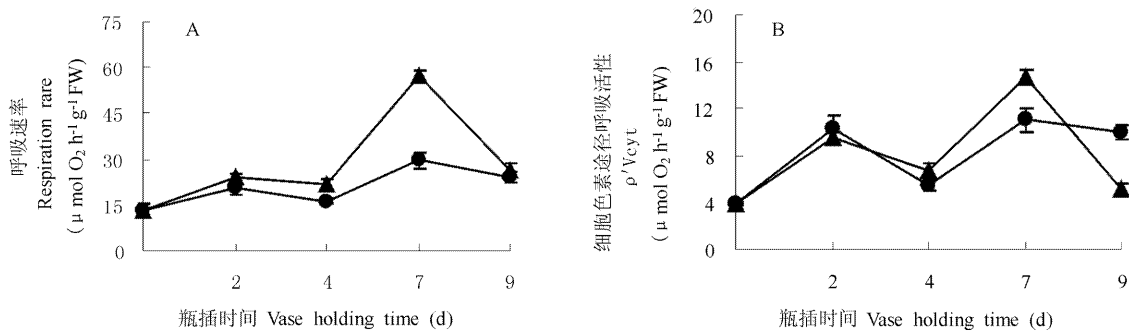


图1 ATP处理对香石竹切花瓶插期间呼吸速率和细胞色素呼吸活性的影响

Fig. 1 Effect of ATP on respiration rate and  $\rho'$ Vcyt of cut carnation flowers during vase holding

●:对照 Control; ▲:ATP

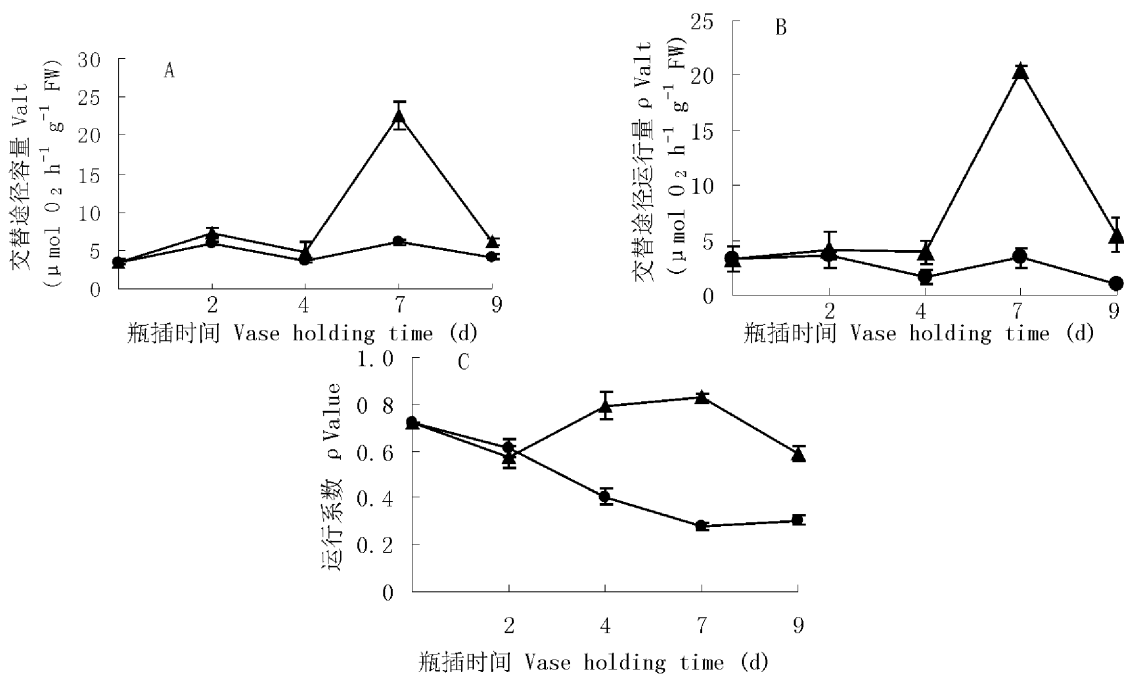


图2 ATP对香石竹切花瓶插期间交替呼吸途径的容量和运行量及ρ值的影响

Fig. 2 Effects of ATP on Valt,  $\rho$ Valt and  $\rho$  values of cut carnation flowers during vase holding

●:对照 Control; ▲:ATP

降(图2A、2B);但后者较前者增加幅度小。交替呼吸途径的运行系数( $\rho$ 值)可反映交替呼吸途径容量被实际运行的程度。本研究结果表明香石竹切花在瓶插期间 $\rho$ 值一直呈下降趋势,显示交替呼吸途径对线粒体呼吸链的电子分流贡献较小,线粒体中电子传递主要以细胞色素呼吸途径为主。

与对照相比,经ATP处理后香石竹切花在瓶插第7天的交替呼吸途径容量提高了约1倍(图2A),交替呼吸途径容量与总呼吸活性存在显著正相关( $y=2.124x+9.7603, r=0.986$ )。交替呼吸途径的实际运行量与容量变化趋势相一致,即ATP处

理后的切花从瓶插第4天开始,交替呼吸途径运行活性不断上升,在第7天时达到最大值;同时交替呼吸途径的运行系数( $\rho$ 值)在第2天后也持续上升(图2B、2C),这表明ATP处理显著诱导了香石竹切花交替呼吸途径的运行。

### 2.3 ATP对交替呼吸途径与细胞色素呼吸途径配比的影响

植物线粒体两条电子传递途径共用一个泛醌库,因而可相互影响。由图3看出,对照香石竹切花的交替呼吸途径与总呼吸的比率不断下降,而细胞色素呼吸途径所占比重在瓶插前2d迅速上升,

随之下降,4 d后又上升。经 ATP 处理的切花恰好与此相反,即交替呼吸途径与总呼吸的比率在前 4 d下降,随后迅速上升,在第 7 天达到最大值;而细胞色素呼吸途径所占比重在瓶插 2 d后不断下降,这表明在瓶插过程中 ATP 处理改变了香石竹切花电子流量在两条呼吸途径中的分配比例;瓶插 4 d后,交替呼吸途径的电子流比例先有上升然后下降,而细胞色素呼吸途径的电子流比例则减少。

## 2.4 DNP 对呼吸电子传递途径的影响

DNP 处理加速了香石竹切花瓶插期间的衰

老,缩短了观赏寿命(数据未列出)。图 4 表明经 DNP 处理后香石竹切花的细胞色素呼吸途径的运行活性呈现先上升(至第 2 天达到最大值),然后下降,7 d后再升高的变化趋势;而交替呼吸途径容量在瓶插过程中一直下降,至第 7 天才开始上升。相关分析表明,细胞色素呼吸途径与总呼吸活性存在正相关( $y = 1.2985x + 10.511, r = 0.85$ ),但交替呼吸途径容量与总呼吸活性相关系数较小;说明总呼吸活性主要来自于细胞色素呼吸途径,与交替呼吸途径关系不大。

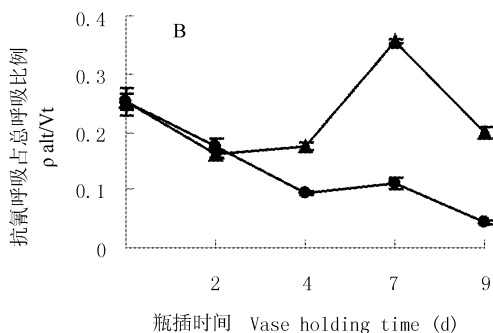
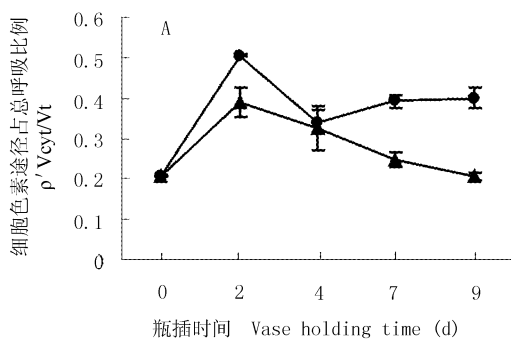


图 3 ATP 对香石竹切花瓶插期间的  $\rho'alt/V_t$  和  $\rho'V_{cyt}/V_t$  的影响

Fig. 3 Effects of ATP on  $\rho'alt/V_t$  and  $\rho'V_{cyt}/V_t$  values of cut carnation flowers during vase holding

●:对照 Control; ▲:ATP

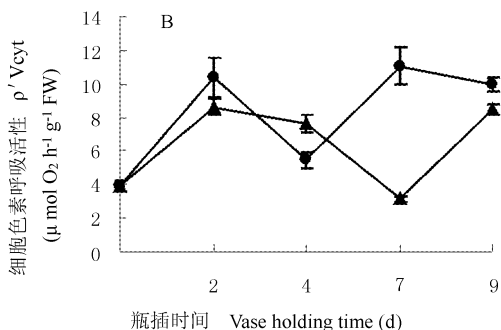
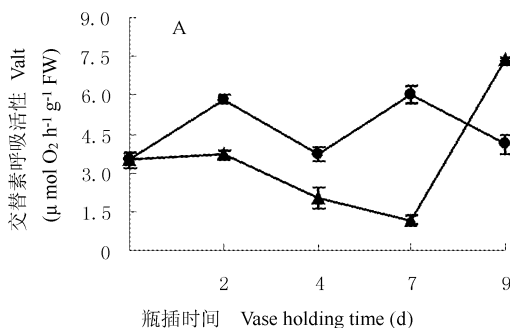


图 4 DNP 处理对香石竹切花瓶插期间的 Valt 和与  $\rho'V_{cyt}$  的影响

Fig. 4 Effects of DNP on Valt and  $\rho'V_{cyt}$  values of cut carnation flowers during vase holding

●:对照 Control; ▲:DNP

## 3 讨论

植物衰老伴随着呼吸作用下降的同时,能量代谢发生异常,表现为线粒体数量减少和线粒体总体积下降以及呼吸链复合体活性的改变,线粒体出现功能性障碍,ATP 产生受阻<sup>[11-14]</sup>。马建忠等<sup>[14]</sup>认为绿豆(*Phaseolus radiatus*)子叶在衰老期间呼吸速率下降,线粒体的氧化磷酸化耦联效率降低和 ATP

酶活性增加导致细胞发生能量亏损。夏涛和刘纪磷<sup>[2]</sup>在研究花粉败育时报道,随着细胞色素代谢途径受到抑制,组织能量代谢水平发生紊乱,能量也出现亏损。ATP 处理鳄梨果实组织的悬浮细胞可提高细胞内能荷水平,改善线粒体活性,从而延迟细胞衰老的发生<sup>[11]</sup>。

与 Zhang 等<sup>[15]</sup>的研究结果类似,香石竹切花采后呼吸速率逐渐上升,7 d 时达到最大值,随后下

降;同时切花出现花瓣卷曲、萎蔫等衰老症状。增加呼吸底物可改善组织能量代谢水平,从而有助于提高切花的呼吸速率<sup>[16]</sup>。本研究发现,ATP处理明显增加了香石竹切花在整个瓶插期间的呼吸速率,并且7d时呼吸速率的高峰值较对照升高1倍,但出现呼吸速率的高峰值时间没有变化(图1A)。细胞色素呼吸途径与总呼吸活性存在显著正相关,暗示线粒体的电子传递主要依靠细胞色素途径进行。另外,交替呼吸途径的容量和运行活性在切花整个瓶插期间变化不大,并且交替呼吸途径的运行系数出现下降(图2A、2B和2C),细胞色素呼吸途径占总呼吸的比重在切花瓶插4d后上升(图3),这进一步表明交替呼吸途径对线粒体呼吸链的电子分流贡献较小,香石竹切花在衰老过程中线粒体的电子传递主要以细胞色素主路呼吸途径为主,这与前人在烟草愈伤组织上得到的结果相一致<sup>[17]</sup>。

经ATP处理后香石竹切花交替呼吸途径的容量和实际运行活性明显增加(图2A和2B),交替呼吸途径运行系数也明显上升,并保持在较高水平上(图2C),交替呼吸途径占总呼吸活性的比重在瓶插4d后迅速上升(图3B)。交替呼吸途径容量与总呼吸活性存在显著正相关,表明ATP处理提高了香石竹切花的交替呼吸途径。现有研究表明,交替呼吸途径的运行可在一定程度上减轻植物组织受到的活性氧伤害<sup>[18-19]</sup>。ATP处理对交替呼吸途径运行活性的诱导作用是否与减轻活性氧对切花组织的伤害、提高活性氧清除酶系统的活性有关尚有待进一步研究阐明。

DNP是氧化磷酸化解耦联剂,可通过破坏跨线粒体内膜质子梯度形成,从而抑制ATP合成<sup>[13]</sup>。本试验采用0.5 mmol/L DNP处理香石竹切花后,其交替呼吸途径容量出现下降,这进一步证实了ATP对提高交替呼吸途径活性的作用。

## 参考文献

[1] Shi C Y(史春余), Wang Z L(王振林), Guo F F(郭凤法), et al. Changes of ATPase activity, ATP and ABA content in storage roots during storage root thickening of sweet potato [J]. Acta Bot Boreal-Occid Sin(西北植物学报), 2002, 22(2): 315-320.(in Chinese)

[2] Xia T(夏涛), Liu J L(刘纪麟). Cytochrome oxidase activity and ATP content of male-sterile cytoplasm in maize (*Zea mays* L.) [J]. Acta Agri Boreali-Sin(华北农学报), 1994, 9(4): 33-37.(in Chinese)

[3] Wang X F(汪晓峰), Jing X M(景新明), Lin J(林坚), et al. The content change of ATP and soluble sugar of ultradry *Ulmus pumila* seed during germination [J]. Acta Phytophysiol Sin(植物生理学报),

2001, 27(5): 413-418.(in Chinese)

[4] Zhang M S(张明生), Xie B(谢波), Tan F(谈锋), et al. Relationship among soluble protein, chlorophyll and ATP in sweet potato under water stress with drought resistance [J]. Sci Agri Sin(中国农业科学), 2003, 36(1): 13-16.(in Chinese)

[5] Chen Y H(陈亚华), Shen Z G(沈振国), Liu Y L(刘友良). Effects of chilling and high pH stresses on the ATPase activities of plasma membrane and tonoplast vesicles isolated from rice (*Oryza sativa* L.) roots [J]. Acta Phytophysiol Sin(植物生理学报), 2000, 20(5): 407-412.(in Chinese)

[6] Zhang S G(张士功), Gao J Y(高吉寅), Song J Z(宋景芝). Effects of 6-BA on the contents of ATP in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedling under NaCl stress [J]. J Beijing Agri Coll(北京农学院学报), 1999, 14(3): 64-66.(in Chinese)

[7] Zhang S G(张士功), Gao J Y(高吉寅), Song J Z(宋景芝). Effects of salicylic acid and aspirin on the ATP contents in wheat seedlings under NaCl stress [J]. Acta Bot Sin(植物学报), 1999, 41(6): 675-676.(in Chinese)

[8] Zhang X H(张新华), Yang H Q(杨洪强), Li F J(李富军), et al. Changes in ultraweak luminescence, ATP and active oxygen contents during apricot florescence [J]. J Plant Physiol Mol Biol(植物生理与分子生物学学报), 2004, 30(1): 41-44.(in Chinese)

[9] Fan X C(樊秀彩), Guang J F(关军锋), Zhou H C(周厚成), et al. Effects of exogenous ethylene on  $Ca^{2+}$ -ATPase activity and membrane lipid peroxidation in postharvest peach fruits [J]. Acta Bot Boreal-Occid Sin(西北植物学报), 2005, 25(5): 941-947.(in Chinese)

[10] Song L L, Liu H, Su X G, et al. Effects of adenosine triphosphate on the vase life of cut carnation flower [J]. Aust J Exp Agri, 2006, 46: 137-139.

[11] Huang L S, Roman R J. Metabolically driven self-restoration of energy-linked functions by avocado mitochondria [J]. Plant Physiol, 1991, 95: 1096-1105.

[12] Bingham I J, Farrar J F. Activity and capacity of respiratory pathway in barley roots deprived inorganic nutrients [J]. Plant Physiol Biochem, 1989, 27: 847-854.

[13] Siedow J W, Berthold D A. The alternative oxidase: a cyanide-resistant respiratory pathway in higher plants [J]. Physiol Plant, 1986, 66: 569-573.

[14] Ma J Z(马建忠), Liang H G(梁厚果), Zou Y P(邹喻萍), et al. Changes of the respiration and mitochondrial functions during senescence of cotyledons of mung bean seedlings [J]. Chin Bull Bot(植物学通报), 1991, 8(3): 45-50.(in Chinese)

[15] Zhang Y H(张英慧), Shangguan G L(上官国莲), Wu Y(伍英). Effects of laminarin on preservation in cut carnation flowers [J]. Acta Hort Sin(园艺学报), 2003, 30(4): 427-430.(in Chinese)

[16] Trippi V, Paulin A. The senescence of cut carnation: a phasic phenomenon [J]. Physiol Plant, 1984, 60: 221-226.

[17] Zhou G K(周攻克), Kong Y Z(孔英珍), Li H Y(李红玉), et al. Dynamic change of respiration pathway and active oxygen levels in subcultured tobacco callus [J]. Chin J Appl Ecol(应用生态学报),

2000, 11(6): 885-888. (in Chinese)

[18] Millenar F F, Jenschop J J, Wagner A M, et al. The role of the alternative oxidase in stabilizing the *in vivo* reduction state of the ubiquinone pool and the activation state of the alternative oxidase

[J]. *Plant Physiol*, 1998, 118: 599-607.

[19] Maxwell D P, Wang Y, McIntosh L. The alternative oxidase lowers mitochondrial reactive oxygen production in plant cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 8271-8276.

## 中国科学院华南植物园园庆征稿启事

中国科学院华南植物园前身为国立中山大学农林植物研究所,由著名植物学家陈焕镛院士创建于 1929 年,1954 年改隶中国科学院,同时易名为中国科学院华南植物研究所。2003 年 10 月,根据中国科学院宏观生物学战略调整的需要,“所园合一”并更名为中国科学院华南植物园。

回眸 80 年的风雨历程,华南植物园有辉煌,也有坎坷;有成功,也有挫折。无数人为她的建设和发展给予过关心、支持,为她奉献过智慧、汗水、青春,乃至毕生精力。总之,是几代人前赴后继的开拓进取,共同铸就了华南植物园今天的成就。为了更好地缅怀历史,追忆先辈,总结经验,谋划未来,励精图治,再创辉煌,华南植物园拟定于 2009 年举行 80 周年庆典活动。

华南植物园拟编撰 80 周年纪念文集和纪念画册,现面向海内外各界人士,公开征集文字和图片稿件。热忱欢迎曾经在华南植物园(所)学习、工作和访问过的研究生、职工、合作者踊跃投稿。征稿内容和注意事项如下。

1. 稿件内容:华南植物园(所)建设和发展历程中重要人物和事件的纪念与回顾文章,重要历史图片和资料。如纪念陈焕镛、张肇骞等资深教授,回顾学科创建与发展历史、重要科研成果,介绍保护区、植物园、科研平台与园区建设、国际合作与交流、人才培养、知识传播、党建与创新文化等。

2. 稿件题材不限,要求文字精炼,语言流畅,原则上不超过 3000 字。届时再选择部分优秀稿件,推荐在《热带亚热带植物学报》(园庆专辑)出版。

3. 对采用的文字稿件原稿恕不退回,请作者自留底稿;采用的图片与史料扫描后将退还原提供者。同时,文集和画册编委会对文稿进行编辑和修改。凡不同意修改者,请事先声明。稿件(文字/图片)一经采用,即付稿酬,并赠送文集或画册 1 本或当期《热带亚热带植物学报》1 本。

4. 征稿截止日期:2008 年 8 月 31 日。

5. 投稿地址:中科院华南植物园综合办公室。地址:广州市天河区兴科路 723 号,邮编:510650, Email: [bgs@scib.ac.cn](mailto:bgs@scib.ac.cn), 电话: 020-37252737。

中国科学院华南植物园

二〇〇八年三月十日