



线粒体蛋白AOX和UCP在植物开花生热中的功能评述

李静¹, 曹德昌², 刘丽娅¹, 王众司¹, 王若涵^{1*}

1. 北京林业大学生物科学与技术学院, 北京 100083;

2. 深圳大学生命与海洋科学学院, 深圳 518060

* 联系人, E-mail: wangrh@bjfu.edu.cn

收稿日期: 2019-06-11; 接受日期: 2019-11-22; 网络版发表日期: 2020-02-13

国家自然科学基金(批准号: 31770201)和膜生物学国家重点实验室开放课题(批准号: 2018kf06)资助

摘要 有些植物的花器官能够主动产生大量热能, 这种类似于动物的生热行为具有多样的生物学功能, 对生热植物的生殖发育至关重要. 开花生热及其调控机制的研究已引起研究者的极大关注. 红外成像技术的发展为开花生热过程的动态监测和生热组织的精确定位提供了至关重要的技术支撑. 交替氧化酶(alternative oxidase, AOX)和解偶联蛋白(uncoupling proteins, UCP)是参与调控植物生热的重要线粒体蛋白. 本文综述了AOX和UCP在植物开花生热中的功能及其作用机制相关研究的进展, 重点探讨了开花生热过程中AOX和UCP的功能与细胞呼吸代谢活动的关系. 此外, 最新研究还发现了一些非传统的不依赖于AOX和UCP的线粒体生热途径. 在系统梳理开花生热调控机制最新研究进展的基础上, 本文展望了将来以线粒体为基本功能单位系统性理解植物开花生热能量供应体系的研究.

关键词 开花生热, 线粒体, 能量代谢, 交替氧化酶, 解偶联蛋白

能量代谢是动植物维持生命活动有效运转的重要生理过程. 对于恒温动物而言, 代谢生热(thermogenesis)是维持体温从而提高生存能力的有效机制. 不仅是恒温动物, 有些植物在花期也能快速主动释放大量的热能, 其生热能力甚至不亚于动物. 在寒冷季节里, 有些植物盛开的花朵能够高出环境温度30℃以上, 甚至可以将其周边的积雪消融^[1]. 近年的研究发现, 植物在花期发生的显著生热行为并非呼吸活动的副产品, 而是一种被精确调控的生理活动, 并且具有重要的生物学功能^[2~5].

开花生热(floral thermogenesis)最早起始于法国博物学家Lamarck的发现, 并在越来越多的植物科属中被相继报导. 植物在开花生热中令人惊叹的能量爆发给人们留下了深刻的印象, 也启发植物学家们对诸多科学问题进行深入思考. 鉴于其重要而又多样化的生物学功能, 开花生热的相关研究已成为目前国际植物研究领域中的热点之一, 备受研究者的重视. 本文追踪了植物开花生热检测技术的最新发展, 重点评述了植物线粒体蛋白交替氧化酶(alternative oxidase, AOX)和解偶联蛋白(uncoupling protein, UCP)在细胞生热中的

引用格式: 李静, 曹德昌, 刘丽娅, 等. 线粒体蛋白AOX和UCP在植物开花生热中的功能评述. 中国科学: 生命科学, 2020, 50: 237–246

Li J, Cao D C, Liu L Y, et al. Perspectives on functions of AOX and UCP in floral thermogenesis (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2020, 50: 237–246, doi: 10.1360/SSV-2019-0198

作用及其在开花生热中的功能。在梳理植物开花生热机制研究进展的基础上, 展望了线粒体功能动态对于植物开花生热的调控作用, 并提出以线粒体为基本功能单位理解植物开花生热能量供应体系的设想。

1 开花生热过程及监测技术的发展

植物的开花生热是指一些植物类群在开花繁殖过程中, 花器官能够自主地产生热量, 并可以对自身温度加以调控, 使花部温度明显高于周围环境温度, 从而促使生殖发育顺利完成的现象^[6-8]。植物开花生热最早由法国博物学家Lamarck在天南星科海芋属(*Arum*)中发现。随后, 研究者相继在木兰科(Magnoliaceae)^[2,9,10]、泽泻科(Alismataceae)^[4]、五味子科(Schisandraceae)^[11]、苏铁科(Gymnadales)^[5]、马兜铃科(Aristolochiaceae)^[12]、棕榈科(Arecaceae)^[11]、环花草科(Cyclanthaceae)^[13]、番荔枝科(Annonaceae)^[14,15]、莲科(Nelumbonaceae)^[16,17]、菌花科(Hydnoaceae)^[18]以及大花草科(Rafflesiaceae)^[19]等14科34属中发现开花生热现象。这些生热植物科属的发现表明, 开花生热现象在植物中广泛存在, 也暗示着开花生热可能具有重要的生物学功能。

近年的研究证实了开花生热在植物中具有多样的生物学功能。开花生热不仅可以防止花器官遭受低温损伤^[20], 还可以通过热能回报(heat reward)的方式招徕昆虫访花^[21]。本研究组^[2]发现, 开花生热还可以通过促进花香的释放进而吸引昆虫访花。尤为重要的是, 最近本研究组^[3]还发现, 生热中的花提供的温暖环境可以促进受精过程顺利进行, 并显著提高玉兰(*Magnolia denudata*)的结实率和种子质量。因此, 开花生热是植物抵御外界不良环境、促进生殖成功、进而适应生境的一种对策, 同时在植物-传粉昆虫协同进化和植物生殖发育过程中具有重要的生物学功能。

尽管人们早就确知植物的开花生热现象, 但是开花生热过程中花部温度和热量释放的精确监测一直是研究者们面临的挑战。由于花器官相对较小的体积和自然环境中空气的流通, 开花生热产生的热量极易快速散失。早期研究中, Lamprecht等人^[22]通过一套非常复杂的自制量热仪设备实现了荷花(*Nelumbo nucifera*)的开花生热过程检测。这一实验装置将荷花样品(包括花朵和相连的一截茎秆)置于一个密封的聚苯乙烯盒

子(壁厚45 mm, 体积为160 mm×160 mm×320 mm), 其检测单元包含3个部分: 第一部分是紧贴于检测空间内壁的水冷壁(water jacket)装置, 利用温度感应器检测水冷壁管内循环流动的水的温度变化, 计算荷花开花生热的热量释放(heat loss)。第二部分是置于样品检测空间的氧探针, 利用检测氧气消耗计算样品的呼吸代谢速率, 进而计算其代谢产生的热量(heat production)。第三部分是热重分析装置(thermal gravimetric analyzer), 用于评估检测过程中蒸发导致的热量损失。通过一系列的检测和计算, 研究者发现, 荷花的产热功率可以达到大约0.3 W^[22]。在荷花的开花生热过程中, 其产生的热量几乎全部通过蒸发散热而释放, 基本不会发生热对流、热传导和热辐射^[22]。鉴于开花生热是一个连续变化的复杂动态过程, 在早期缺乏有效的技术检测手段, 加之外界自然环境温度波动的干扰, 这种微量的热量释放一直无法通过常规测温方法进行实地(*in situ*)的活体(*in vivo*)检测。

红外线测温技术和红外热成像技术的发展, 使开花生热的温度检测获得了新的机遇。早在20世纪90年代, 红外成像技术发明20年后即被引入植物开花生热研究, 被用于检测花部温度^[23]。尽管当时的成像分辨率很低, 但是这一技术足以检测出温度在生热的花中并非均匀分布^[23]。这一结果表明, 并非整个花朵的细胞都具有相同的生热能力, 而是由花器官的特定组织和细胞主导生热。关键生热部位的精确定位及获取对于进一步研究开花生热机理极其重要, 这些挑战激发着科学家积极探索各种技术手段以求准确定位植物的生热组织和细胞。近年来, 本研究组^[2,9]通过反复实践和摸索, 发展了一套行之有效的办法, 综合运用加载微距镜头的高分辨红外热成像仪和高灵敏度热偶探针, 在野外条件下首次成功且精确地鉴定出玉兰(*M. denudata*)和武当木兰(*M. sprengeri*)的关键开花生热组织为雌蕊群。通过微距红外镜头和高灵敏度热偶探针的结合使用, 本研究组使温度检测的空间分辨率提升至42 μm, 温度精确度提升到0.02℃, 实现了对关键生热组织在整个开花生热过程中温度变化的连续精准测定。这些技术的累积为后续产热机制的深入研究奠定了精准取样的基础。

开花生热并非在植物的整个花期都发生, 而是会表现出与花期阶段密切相关的节律性动态变化。比如, 天南星科植物*Dracunculus vulgaris*和菌花科植物*Hyd-*

*nora esculenta*在雌蕊期发生显著的开花生热现象^[18], 天南星科*Helicodieros muscivorus*和*Arum concinatum*则在雄蕊期大量释放热量^[24], 而木兰科玉兰和武当木兰在雌蕊期和雄蕊期均有生热高峰^[2,9]. 开花生热过程呈现出高度动态变化, 而且因物种不同而表现各异, 这也为开花生热的温度检测带来了挑战. 已知的开花生热植物花期一般持续数天, 以目前的技术手段检测开花生热, 实验操作繁琐而且耗时长. 开发新的活体精准监测方法, 也是当前众多实验室在开花生热研究中的热点.

2 开花生热是一项精确调控的主动生理活动

植物细胞在新陈代谢活动中均能产生一些热量; 然而, 大多数情况下这种生热反应非常缓慢, 或是热量释放很少, 因而不会造成明显的温度上升^[25]. 与此不同的是, 开花生热中的花器官能够在短期内迅速产生并累积大量热能, 使花器官温度显著高于环境温度^[1]. 前期的研究表明, 开花生热并不是植物常规呼吸活动的副产品, 而是一种精确调控的短期内热能大量释放的主动生理活动^[26,27]. 在开花生热过程中, 花器官呼吸作用显著增强且氧气消耗量大幅提高^[10]. 然而这一呼吸过程并不是将所有能量以ATP形式储存, 而是主要以热能的形式释放, 进而提高花部温度^[4].

开花生热的调控机制引起了植物学家的广泛兴趣, 但是由于在相关物种中尚未建立有效的遗传转化体系, 目前尚缺乏强有力的分子遗传学证据来阐释开花生热调控机制和信号途径. 考虑到植物生热不仅发生在花器官, 如植物种子在萌发过程中会生热^[28], 植物叶片在遭遇胁迫时也会产生热量^[29]. 尽管开花生热并不发生于所有物种, 但这些非花器官的生热却在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)等模式植物中被发现, 并被广泛研究. 通过对模式植物的深入研究, 研究者已经成功发现, 植物细胞中有两种定位于线粒体的蛋白可以在呼吸电子传递链上发挥生热功能, 包括交替氧化酶(AOX)和解偶联蛋白(UCP). 现阶段, 模式植物中非花器官生热的研究结果被广泛借用和参考, 用以解释植物开花生热的调控机理.

2.1 线粒体AOX蛋白与开花生热的调控

交替氧化酶(AOX)是一种植物细胞中广泛存在,

且定位于线粒体内膜的末端氧化酶^[30,31]. 在线粒体电子传递链交替氧化酶途径中, 电子不通过复合体III和IV, 而是直接通过AOX传递给氧气, 不利于跨膜质子电化学势梯度的建立. 相较于细胞色素途径, AOX途径只能产生少量ATP, 而大量能量以热能的形式释放^[32](图1). AOX蛋白由核基因编码, 大部分双子叶植物含有AOX1和AOX2两组(group)成员, 而某些单子叶植物只有AOX1, AOX2则存在于常见的禾本科植物中^[33,34]. 在胁迫条件下(如低温、干旱、损伤)或线粒体功能障碍时, AOX1产生应激表达, 通过抑制活性氧(reactive oxygen species, ROS)的生成, 维持线粒体稳态来参与植物胁迫反应^[35], 并通过线粒体逆行信号起到对植物的防御保护作用^[36-38]; AOX2则参与种子萌发及果实成熟的生理过程^[37](表1).

Millar等人^[43]曾深入研究用不同的特异性抑制剂来解析线粒体电子传递链中线粒体细胞色素途径和AOX途径呼吸活性的方法并发现, 马铃薯(*Solanum tuberosum*)和大豆(*Glycine max*)的细胞色素呼吸途径被完全抑制的情况下, 交替呼吸途径依然可以正常运行. 这一研究为解析植物开花生热中AOX途径的呼吸活性提供了方法学基础. 基于此方法, 有研究发现, AOX介导的呼吸途径在生热植物荷花(*N. nucifera*)生热前后发生了显著变化. 当达到生热最高峰时, AOX呼吸作用比生热前显著增强, 占总呼吸作用的75%; 而在整个生热过程中, 细胞色素途径的呼吸作用却没有发生明显变化^[40]. 另一项研究通过蛋白免疫印迹方法发现, AOX蛋白的稳态水平在生热开始时急速上调, 而在生热过程中则维持在一个较高的稳定水平^[26]. 此外, 对*Arum maculatum*生热前后相关基因转录的检测表明, 有7个编码AOX的基因在生热时发生了转录水平的明显变化, 其中*AmAOX1e*呈现出显著的上调表达^[44]. 由此可见, AOX介导的交替氧化途径可能参与植物开花生热的调控.

大多数AOX蛋白在近N端具有两个保守的氨基酸残基(Cys1和Cys2), 这两个Cys残基分别介导AOX蛋白对丙酮酸盐和乙醛酸盐的响应. 如果这两个位点的Cys同时被突变, 则导致AOX蛋白不能响应丙酮酸盐和乙醛酸盐的刺激^[45]. 考虑到绝大部分植物AOX的活性都响应丙酮酸盐刺激, Cys1对于AOX蛋白活性至关重要. 这些有关AOX蛋白活性的研究都以非开花生热植物为材料, 然而目前有关生热植物中AOX蛋白活性的调

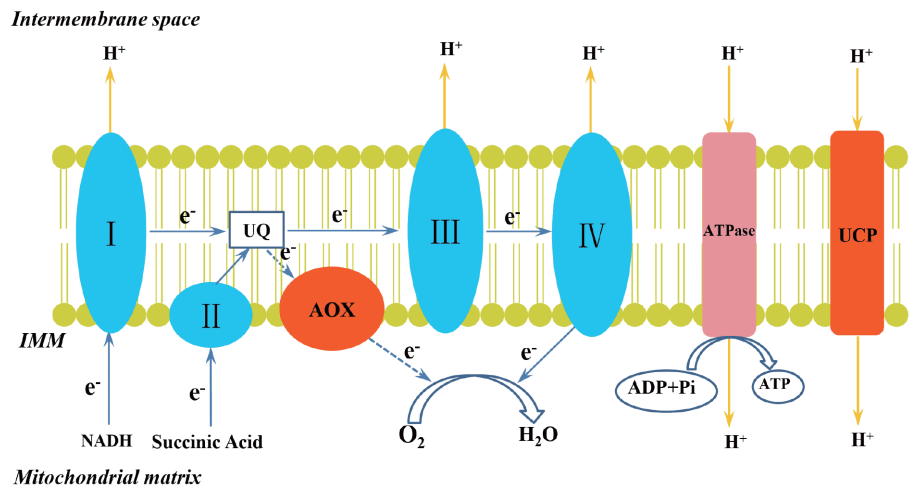


图 1 植物线粒体中的电子传递链及能量生成。在细胞色素氧化酶途径中, 电子由三羧酸循环的中间产物NADH和琥珀酸分别传至线粒体上的复合体 I (complex I)和复合体 II (complex II), 再传递至泛醌(ubiquinone, UQ), 之后依次经复合体III(complex III)和复合体IV(complex IV)传递至O₂, 形成H₂O。线粒体基质(mitochondrial matrix)中H⁺经复合体 I, III, IV泵出至膜间隙(intermembrane space), 产生跨膜质子梯度。H⁺经ATP合酶(ATPase)返回线粒体基质, 在ATP合酶作用下驱动ADP和Pi结合形成ATP。还有部分电子在UQ处分支, 经泛醌(UQ)传递给线粒体内膜(inner mitochondrial membrane, IMM)上的交替氧化酶(alternative oxidase, AOX), 最终传递给O₂, 形成H₂O。线粒体解偶联蛋白(uncoupling protein, UCP)可将H⁺从膜间隙返回线粒体基质过程与ATP合成过程解偶联, 使大量能量以热能的形式释放(网络版彩图)

Figure 1 The electron transport chain and energy production in plant mitochondria. In the cytochrome C pathway, NADH and succinic acid, which are intermediate products of the tricarboxylic acid cycle, transfer electrons to Complex I and Complex II, respectively. Then, electrons are transferred to the UQ pool from Complexes I and II. Electrons in the UQ pool are passed sequentially to Complex III, cytochrome C, and finally to Complex IV, which catalyzes the reduction of O₂ to H₂O. In a branch pathway, electrons flow from the UQ to AOX, which reduces O₂ to H₂O. During the process of oxidative phosphorylation, H⁺ is translocated to the inner membrane space of mitochondria via ATPase and the proton motive force is used to generate ATPs. The presence of UCPs can uncouple the transmembrane activity of H⁺ and ATP synthesis, resulting in release of energy as heat (color online)

表 1 拟南芥和生热植物AOX基因及其功能

Table 1 AOX genes and their functions in *A. thaliana* and thermogenic plants

基因	物种	生物学功能	参考文献
<i>AtAOX1a/1b/1c/1d</i>	<i>A. thaliana</i>	参与线粒体交替氧化酶呼吸途径, 抑制ROS形成, 维持线粒体稳态来参与植物胁迫反应	[35~38]
<i>AtAOX2</i>	<i>A. thaliana</i>	种子萌发早期及果实成熟期蛋白表达水平增加	[39]
<i>NnAOX</i>	<i>N. nucifera</i>	生热期间NnAOX蛋白水平上调表达, 调节ROS活性	[40]
<i>CrAOX1</i>	<i>Cycas revolute</i>	生热期间CrAOX1蛋白水平上调表达	[5]
<i>AlAOX</i>	<i>A. lily</i>	生热期间AOX蛋白水平上调表达	[41]
<i>AmAOX</i>	<i>A. maculatum</i>	丙酮酸可刺激AmAOX活性, 其在生热过程中上调表达, 在产热过程中发挥一定作用	[42]

控所知甚少。最近有研究发现, 生热的荷花中存在两条Cys1被Ser取代的AOX序列^[46]。进一步研究发现, 荷花生热过程中的AOX呼吸并不响应丙酮酸盐和乙醛酸盐的刺激, 而是响应柠檬酸盐的刺激。本研究组的近期研究也发现, 在玉兰开花生热高峰期, 细胞中柠檬酸盐的累积水平显著上升(未发表数据)。这些结果为研究开花生热中AOX活性的调控提供了非常有价值的

线索。

植物激素水杨酸(salicylic acid, SA)也可能通过AOX途径参与开花生热的调控。研究者曾在*A. lilies*的生热组织内检测到高含量的水杨酸(SA)^[47,48]。随后有研究通过外源施加SA, 刺激天南星科生热植物*Sauro-matum venosum*, 检测到细胞内AOX蛋白的积累以及线粒体呼吸代谢中AOX途径的增加, 从而推测水杨酸

(SA)可能引起AOX蛋白高表达进而影响生热^[49]。最新研究发现,在天南星科植物*A. concinnum*中,水杨酸含量的升高发生时间与生热高峰相差约10 h^[50]。这种长时间的滞后令人怀疑水杨酸(SA)是否能够在开花生热中起调控作用。

2.2 线粒体解偶联蛋白UCP的生热作用

植物线粒体解偶联蛋白(UCP)是位于线粒体内膜上的一类阴离子转运蛋白,在真核生物中广泛存在,并与动植物的生热密切相关。Ricquier和Kader于1976年在哺乳动物褐色脂肪组织(brown adipose tissue, BAT)的线粒体内膜上首次发现解偶联蛋白(UCP)。由于解偶联蛋白可以将H⁺通过线粒体内膜渗漏到线粒体基质中,从而驱散跨膜质子电化学势梯度,使线粒体呼吸作用的电子传递过程与二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)形成过程解偶联,从而将能量以热能形式释放^[51](图1)。随后,在植物的多种组织中也发现UCP蛋白的表达^[52,53]。在某些植物开花生热时,UCP基因在mRNA或者蛋白水平的表达量显著上升,例如天南星科植物*Philodendron selloum*和*Symplocarpus renifolius*^[54]。这些结果表明,UCP蛋白也有可能参与调控植物的开花生热。

解偶联蛋白(UCP)在植物组织中亦有表达^[55]。迄今为止,研究人员已从白星海芋(*Helicodiceros muscivorus*)、拟南芥、臭菘(*S. renifolius*)等植物中相继检测到解偶联蛋白的表达^[52]。UCP家族基因在拟南芥中存在5个成员(UCP1, UCP2, UCP3, UCP4, UCP5)(表2)。UCP1不仅在线粒体ATP合成过程中起到解偶联的作用,而且当植物受到低温、高盐以及病害时,UCP1可通过降低ROS的产生调节细胞氧化还原稳态,从而维持线粒体电子传递链运转和细胞氧化还原平衡,在能量释放以及生物与非生物胁迫中发挥重要作用^[51,56,57]。此外,UCP1过表达亦会导致碳同化以及气孔导度的增加,从而促进呼吸代谢^[1,51]。UCP1和UCP2在热诱导的细胞程序性细胞死亡中表达量均增加,从而抑制ROS的形成^[62]。UCP3对冷胁迫不敏感,在种子萌发过程中于胚芽部位高表达,可与UCP1和UCP2共同执行功能,对ROS的产生起到一定抑制作用^[63,64]。UCP4和UCP5在非生物胁迫,如寒冷、干旱、渗透、伤害中扮演重要角色^[52,59,65]。其中,除了抵御非生物胁迫外,UCP5还在生物胁迫反应(如昆虫摄食及病原体侵染)中发挥重

要生理作用^[52]。

在对生热植物*D. vulgaris*和*P. selloum*的研究中发现,生热花中的UCP蛋白在生热时表达量较高^[54]。通过基因克隆,研究者进一步鉴定出生热植物臭菘中的*SrUCPa*基因,在开花生热中显示出活跃的解偶联活动,该基因与*SrUCPb*相比缺少第6个跨膜区和嘌呤核苷酸结合域^[55]。随后, Ito-Inaba等人^[66]利用qRT-PCR(real time quantitative PCR)技术检测臭菘在生热时UCP基因的转录水平,发现UCP基因在生热部位中特异性表达。随后, Ito-Inaba等人^[67]在臭菘的生热期肉穗花序中检测到解偶联蛋白,并发现解偶联蛋白表达量甚至高于交替氧化酶,由此推测,UCP很可能在臭菘的开花生热中发挥主导作用。解偶联蛋白在另一种开花生热植物*A. maculatum*线粒体中的表达量较低,研究者推测其并不是*A. maculatum*开花生热调控的关键因素^[44]。因此,UCP在开花生热中的功能也可能因物种而异。综上,植物的开花生热是一个复杂且受多层次调节的生理过程,涉及能量代谢的多个方面。

2.3 有关开花生热调控机制的假说和争议

自AOX和UCP被发现以来,关于AOX还是UCP在开花生热中占主导作用一直存在争议。为了解决这一争议,有假说提出AOX或者UCP对开花生热的调控作用取决于花器官呼吸代谢的底物:如果呼吸代谢底物为糖类,则可能是AOX起作用;如果为脂类,则可能是UCP起调控作用^[51,52,54]。有学者发现,增加游离脂肪酸浓度会阻碍交替氧化酶的活性,由此推测游离脂肪酸可能作为能量耗散系统之间的开关元件来调控交替氧化酶与解偶联蛋白的表达^[63]。本研究组在对玉兰生热期间蛋白表达的研究中发现,UCP与AOX均有一定水平的表达(未发表数据)。Onda等人^[68]发现,生热植物臭菘中AOX与UCP可以同时生热的花中表达,并且AOX与UCP的表达水平与组织中的亚油酸与丙酮酸水平有关。这些研究结果表明,AOX与UCP可能在植物开花生热中同时发挥功能,而且随着细胞呼吸代谢活动的变化,AOX和UCP在开花生热中的功能可能发生切换。活性AOX和UCP在植物中普遍存在,但是并非所有植物都具有开花生热现象(比如模式植物拟南芥和水稻等),那么开花生热植物是否可响应特别的信号而激发AOX和UCP在花中的生热功能呢?如果确实存在这种信号,那么其信号受体又是什么?截至目前,

表 2 拟南芥和生热植物UCP基因及其功能

Table 2 UCP genes and their functions in *A. thaliana* and thermogenic plants

基因	物种	生物学功能	参考文献
<i>AtUCP1</i>	<i>A. thaliana</i>	在ATP合成过程中起到解偶联的作用; 对生物及非生物胁迫的反应发挥重要作用, 如高盐、干旱; 通过降低ROS的产生调节细胞氧化还原稳态, 维持线粒体电子传递链的运转, 促进光合代谢, 参与调节光合作用效率	[52,56-61]
<i>AtUCP2</i>	<i>A. thaliana</i>	与UCP1在热诱导的细胞程序性细胞死亡中表达量增加, 可能在限制ROS的形成中发挥作用	[58,62]
<i>AtUCP3</i>	<i>A. thaliana</i>	对冷胁迫不敏感, 在种子萌发过程中于胚芽部位高表达, 可与UCP1和UCP2共同执行功能, 对ROS的产生起到一定抑制作用	[63,64]
<i>AtUCP4</i>	<i>A. thaliana</i>	在寒冷、干旱、氧化应激等胁迫中发挥作用	[58,59,65]
<i>AtUCP5</i>	<i>A. thaliana</i>	在非生物胁迫, 如寒冷、干旱、渗透、伤害、病原体侵袭中发挥作用; 在植物胁迫反应(风、雨雹, 昆虫摄食)中发挥重要生理作用	[52]
<i>SrUCPa</i>	<i>S. renifolius</i>	SrUCPa蛋白在产热组织中特异性表达, 与生热阶段无关	[54,66,67]
<i>SrUCPb</i>	<i>S. renifolius</i>	SrUCPb不参与调节产热, 可能是SrUCPa转录本的伪基因或剪接变体	[54,66,67]
<i>PbUCP</i>	<i>P. bipinnatifidum</i>	PbUCP在生热组织中表达, 可能在生热发生中发挥作用	[1]

尚不清楚有何信号和信号受体参与了该过程, 它们又如何影响AOX和UCP的产热功能. 这些将是进一步深入认识开花生热的调控机制所需要回答的重要问题.

3 展望

近年来, 得益于高通量测序等新兴技术的发展, 越来越多的证据表明, 植物开花生热可能存在AOX和UCP之外的其他调控途径. 目前在转录组层面的研究发现, 臭菘和*A. concinatum*的花部细胞在生热过程中发生了大量基因mRNA的差异表达^[69,70]. 并且, 这些差异表达基因的蛋白产物大多定位于线粒体和叶绿体, 与线粒体功能紧密相关^[62]. 此外, 本研究组^[71]发现, miRNA(microRNA)在植物的开花生热中也发挥重要作用. 最近, 在动物中还报导了一种完全不依赖于UCP的生热途径^[72]. 动物细胞中, 定位于内质网膜上的Ca²⁺-ATP酶SERCA通过消耗ATP而将Ca²⁺泵入内质网内腔^[73,74]. 最新的研究在果蝇(*Drosophila*)中发现, 冷响应(cold responsive)蛋白THADA(thyroid adenoma associated)可以解偶联SERCA的Ca²⁺泵入和ATP水解过程, 导致Ca²⁺泵入水平降低同时ATP被水解为ADP而释放能量产生热量^[72]. 这些结果暗示着植物开花生热可能存在更深刻的调控因子.

线粒体是动植物呼吸和能量代谢的重要场所, 考虑到开花生热的重要调控因子AOX和UCP均定位于线粒体, 线粒体可能作为一个整体在开花生热中协调热量供应. 研究发现, 与非生热阶段相比, 生热阶段的臭菘雌蕊细胞内线粒体的密度显著增高^[67], 表明生热关键部位线粒体的发生与生热过程密切相关. 在动物活体细胞中, 线粒体时刻保持着分裂和融合的动态平衡, 并由马达蛋白提供动力, 或者由微丝介导^[75,76], 向代谢旺盛的区域迁移, 以便行使它们的功能^[77]. 本研究组在最新的研究中发现, 玉兰在开花生热过程中, 生热组织细胞内的线粒体具有明显的形态学变化. 在生热高峰期, 细胞内线粒体数量明显增多, 并多呈现为拉长及环形的形态(未发表数据). 这些结果预示着线粒体的功能动态与开花生热存在着密切的关系.

尽管科学家在解析开花生热生物学功能及调控机制方面取得了一系列的重要进展^[20,21,27,55], 但由于植物开花生热调控网络的复杂程度超出人们的想象, 生热细胞内的产热机制及网络仍需深入研究与探索. 尤其是线粒体作为一个基本功能单位, 可能通过多方面途径精细调控开花生热和温度的维持. 以线粒体为整体, 系统性地研究开花生热中能量产生的调控网络对于更好地理解植物开花生热能量代谢具有十分深远的意义.

致谢 感谢北京大学分子医学研究所程和平院士实验平台及膜生物学国家重点实验室在本研究中给予的大力支持.

参考文献

- 1 Miller R E, Grant N M, Giles L, et al. In the heat of the night-alternative pathway respiration drives thermogenesis in *Philodendron bipinnatifidum*. *New Phytol*, 2011, 189: 1013–1026
- 2 Wang R, Xu S, Liu X, et al. Thermogenesis, flowering and the association with variation in floral odour attractants in *Magnolia sprengeri* (Magnoliaceae). *PLoS ONE*, 2014, 9: e99356
- 3 Liu L, Zhang C, Ji X, et al. Temporal petal closure benefits reproductive development of *Magnolia denudata* (Magnoliaceae) in early spring. *Front Plant Sci*, 2017, 8: 430
- 4 Seymour R S, Ito K, Umekawa Y. Respiration of thermogenic inflorescences of skunk cabbage *Symplocarpus renifolius* in heliox. *Plant Cell Environ*, 2018, 41: 367–373
- 5 Ito-Inaba Y, Sato M, Sato M P, et al. Alternative oxidase capacity of mitochondria in microsporophylls may function in cycad thermogenesis. *Plant Physiol*, 2019, 180: 743–756
- 6 Seymour R S, Ito Y, Onda Y, et al. Effects of floral thermogenesis on pollen function in Asian skunk cabbage *Symplocarpus renifolius*. *Biol Lett*, 2009, 5: 568–570
- 7 Wang R H, Zhang Z X. Perspectives and research advances on the thermogenesis (in Chinese). *Guihaia*, 2011, 31: 407–413 [王若涵, 张志翔. 开花生热效应研究进展. *广西植物*, 2011, 31: 407–413]
- 8 Wang R, Zhang Z. Floral thermogenesis: An adaptive strategy of pollination biology in Magnoliaceae. *Commun Integr Biol*, 2015, 8: e992746
- 9 Wang R, Liu X, Mou S, et al. Temperature regulation of floral buds and floral thermogenicity in *Magnolia denudata* (Magnoliaceae). *Trees*, 2013, 27: 1755–1762
- 10 Seymour R S, Silberbauer-Gottsberger I, Gottsberger G. Respiration and temperature patterns in thermogenic flowers of *Magnolia ovata* under natural conditions in Brazil. *Funct Plant Biol*, 2010, 37: 870–878
- 11 Seymour R S, Schultze-Motel P. Heat-producing flowers. *Endeavour*, 1997, 21: 125–129
- 12 Huang Y S, Peng R C, Tan W N, et al. *Aristolochia mulunensis* (Aristolochiaceae), a new species from limestone areas in Guangxi, China. *Ann Bot Fennici*, 2013, 50: 175–178
- 13 Gottsberger G. Flowers and beetles in the south American tropics. *Bot Acta*, 1990, 103: 360–365
- 14 Gottsberger G. Pollination and evolution in neotropical Annonaceae. *Plant Spec Biol*, 1999, 14: 143–152
- 15 Gottsberger G. Beetle pollination and flowering rhythm of *Annona* spp. (Annonaceae) in Brazil. *Plant Syst Evol*, 1989, 167: 165–187
- 16 Seymour R S, Schultze-Motel P, Lamprecht I. Heat production by sacred lotus flowers depends on ambient temperature, not light cycle. *J Exp Bot*, 1998, 49: 1213–1217
- 17 Dieringer G, Leticia Cabrera R, Mottaleb M. Ecological relationship between floral thermogenesis and pollination in *Nelumbo lutea* (Nelumbonaceae). *Am J Bot*, 2014, 101: 357–364
- 18 Seymour R S, Maass E, Bolin J F. Floral thermogenesis of three species of *Hydnora* (Hydnoraceae) in Africa. *Ann Bot*, 2009, 104: 823–832
- 19 Patiño S, Grace J, Bänziger H. Endothermy by flowers of *Rhizanthus lowii* (Rafflesiaceae). *Oecologia*, 2000, 124: 149–155
- 20 Li J K, Huang S Q. Flower thermoregulation facilitates fertilization in Asian sacred lotus. *Ann Bot*, 2009, 103: 1159–1163
- 21 Seymour R S, White C R, Gibernau M. Environmental biology: Heat reward for insect pollinators. *Nature*, 2003, 426: 243–244
- 22 Lamprecht I, Seymour R S, Schultze-Motel P. Direct and indirect calorimetry of thermogenic flowers of the sacred lotus, *Nelumbo nucifera*. *Thermochim Acta*, 1998, 309: 5–16
- 23 Skubatz H, Nelson T A, Meeuse B J D, et al. Heat production in the voodoo lily (*Sauromatum guttatum*) as monitored by infrared thermography. *Plant Physiol*, 1991, 95: 1084–1088
- 24 Seymour R S, Gibernau M, Ito K. Thermogenesis and respiration of inflorescences of the dead horse arum *Heliconia muscivora*, a pseudo-thermoregulatory aroid associated with fly pollination. *Funct Ecol*, 2003, 17: 886–894
- 25 Seymour R S, Lindshau G, Ito K. Thermal clamping of temperature-regulating flowers reveals the precision and limits of the biochemical regulatory mechanism. *Planta*, 2010, 231: 1291–1300
- 26 Grant N M, Miller R E, Watling J R, et al. Synchronicity of thermogenic activity, alternative pathway respiratory flux, AOX protein content, and carbohydrates in receptacle tissues of sacred lotus during floral development. *J Exp Bot*, 2008, 59: 705–714
- 27 Umekawa Y, Seymour R S, Ito K. The biochemical basis for thermoregulation in heat-producing flowers. *Sci Rep*, 2016, 6: 24830
- 28 Kranner I, Kastberger G, Hartbauer M, et al. Noninvasive diagnosis of seed viability using infrared thermography. *Proc Natl Acad Sci USA*,

- 2010, 107: 3912–3917
- 29 Dahal K, Vanlerberghe G C. Alternative oxidase respiration maintains both mitochondrial and chloroplast function during drought. *New Phytol*, 2016, 213: 560–571
- 30 Miller R E, Watling J R, Robinson S A. Functional transition in the floral receptacle of the sacred lotus (*Nelumbo nucifera*): From thermogenesis to photosynthesis. *Funct Plant Biol*, 2009, 36: 471–480
- 31 Zhu Y, Lu J, Wang J, et al. Regulation of thermogenesis in plants: The interaction of alternative oxidase and plant uncoupling mitochondrial protein. *J Integr Plant Biol*, 2011, 53: 7–13
- 32 Rasmusson A G, Fernie A R, van Dongen J T. Alternative oxidase: A defence against metabolic fluctuations? *Physiol Plantarum*, 2010, 137: 371–382
- 33 McDonald A E, Amirsadeghi S, Vanlerberghe G C. Prokaryotic orthologues of mitochondrial alternative oxidase and plastid terminal oxidase. *Plant Mol Biol*, 2003, 53: 865–876
- 34 Selinski J, Hartmann A, Deckers-Hebestreit G, et al. Alternative oxidase isoforms are differentially activated by tricarboxylic acid cycle intermediates. *Plant Physiol*, 2018, 176: 1423–1432
- 35 Umbach A L, Fiorani F, Siedow J N. Characterization of transformed *Arabidopsis* with altered alternative oxidase levels and analysis of effects on reactive oxygen species in tissue. *Plant Physiol*, 2005, 139: 1806–1820
- 36 Fiorani F, Umbach A L, Siedow J N. The alternative oxidase of plant mitochondria is involved in the acclimation of shoot growth at low temperature. A study of *Arabidopsis AOX1a* transgenic plants. *Plant Physiol*, 2005, 139: 1795–1805
- 37 Costa J H, Mota E F, Cambursano M V, et al. Stress-induced co-expression of two alternative oxidase (*VuAox1* and *2b*) genes in *Vigna unguiculata*. *J Plant Physiol*, 2010, 167: 561–570
- 38 Del-Saz N F, Ribas-Carbo M, McDonald A E, et al. An *in vivo* perspective of the role(s) of the alternative oxidase pathway. *Trends Plant Sci*, 2018, 23: 206–219
- 39 Clifton R, Millar A H, Whelan J. Alternative oxidases in *Arabidopsis*: A comparative analysis of differential expression in the gene family provides new insights into function of non-phosphorylating bypasses. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1757: 730–741
- 40 Watling J R, Robinson S A, Seymour R S. Contribution of the alternative pathway to respiration during thermogenesis in flowers of the sacred lotus. *Plant Physiol*, 2006, 140: 1367–1373
- 41 Wagner A M, Krab K, Wagner M J, et al. Regulation of thermogenesis in flowering Araceae: The role of the alternative oxidase. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1777: 993–1000
- 42 Carré J E, Affourtit C, Moore A L. Interaction of purified alternative oxidase from thermogenic *Arum maculatum* with pyruvate. *FEBS Lett*, 2011, 585: 397–401
- 43 Millar A H, Atkin O K, Lambers H, et al. A critique of the use of inhibitors to estimate partitioning of electrons between mitochondrial respiratory pathways in plants. *Physiol Plant*, 1995, 95: 523–532
- 44 Ito K, Ogata T, Kakizaki Y, et al. Identification of a gene for pyruvate-insensitive mitochondrial alternative oxidase expressed in the thermogenic appendices in *Arum maculatum*. *Plant Physiol*, 2011, 157: 1721–1732
- 45 Umbach A L, Ng V S, Siedow J N. Regulation of plant alternative oxidase activity: A tale of two cysteines. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1757: 135–142
- 46 Grant N, Onda Y, Kakizaki Y, et al. Two Cys or not two Cys? That is the question; alternative oxidase in the thermogenic plant sacred lotus. *Plant Physiol*, 2009, 150: 987–995
- 47 Raskin I, Ehmann A, Melander W R, et al. Salicylic acid: A natural inducer of heat production in *Arum lilies*. *Science*, 1987, 237: 1601–1602
- 48 Raskin I, Turner I M, Melander W R. Regulation of heat production in the inflorescences of an *Arum* lily by endogenous salicylic acid. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, 86: 2214–2218
- 49 Rhoads D M, McIntosh L. Salicylic acid regulation of respiration in higher plants: Alternative oxidase expression. *Plant Cell*, 1992, 4: 1131–1139
- 50 Laina D, Oikonomou I, Koutroumpa K, et al. Exogenous induction of thermogenesis in *Arum concinatum* by salicylic acid. *Funct Plant Biol*, 2018, 45: 1195–1204
- 51 Brandalise M, Maia I G, Borecký J, et al. Overexpression of plant mitochondrial uncoupling protein in transgenic tobacco increases tolerance to oxidative stress. *J Bioenerg Biomembr*, 2003, 35: 203–209
- 52 Vercesi A E, Borecký J, Maia I G, et al. Plant uncoupling mitochondrial proteins. *Annu Rev Plant Biol*, 2006, 57: 383–404

- 53 Xu F, Yuan X, Liang H G, et al. The roles of alternative oxidase and uncoupling protein in plant mitochondria and their interrelationships (in Chinese). *Plant Physiol Commun*, 2009, 45: 105–109 [徐飞, 袁澍, 梁厚果, 等. 交替氧化酶和解偶联蛋白在植物线粒体中的作用及其相互关系. *植物生理学通讯*, 2009, 45: 105–109]
- 54 Ito K, Seymour R S. Expression of uncoupling protein and alternative oxidase depends on lipid or carbohydrate substrates in thermogenic plants. *Biol Lett*, 2005, 1: 427–430
- 55 Ito-Inaba Y, Hida Y, Mori H, et al. Molecular identity of uncoupling proteins in thermogenic skunk cabbage. *Plant Cell Physiol*, 2008, 49: 1911–1916
- 56 Figueira T R S, Arruda P. Differential expression of uncoupling mitochondrial protein and alternative oxidase in the plant response to stress. *J Bioenerg Biomembr*, 2011, 43: 67–70
- 57 Barreto P, Okura V K, Neshich I A P, et al. Overexpression of UCP1 in tobacco induces mitochondrial biogenesis and amplifies a broad stress response. *BMC Plant Biol*, 2014, 14: 144
- 58 Monné M, Daddabbo L, Gagneul D, et al. Uncoupling proteins 1 and 2 (UCP1 and UCP2) from *Arabidopsis thaliana* are mitochondrial transporters of aspartate, glutamate, and dicarboxylates. *J Biol Chem*, 2018, 293: 4213–4227
- 59 Hourton-Cabassa C, Rita Matos A, Zachowski A, et al. The plant uncoupling protein homologues: A new family of energy-dissipating proteins in plant mitochondria. *Plant Physiol Biochem*, 2004, 42: 283–290
- 60 Sweetlove L J, Lytovchenko A, Morgan M, et al. Mitochondrial uncoupling protein is required for efficient photosynthesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 19587–19592
- 61 Begcy K, Mariano E D, Mattiello L, et al. An *Arabidopsis* mitochondrial uncoupling protein confers tolerance to drought and salt stress in transgenic tobacco plants. *PLoS ONE*, 2011, e23776
- 62 Swidzinski J A, Sweetlove L J, Leaver C J. A custom microarray analysis of gene expression during programmed cell death in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 2002, 30: 431–446
- 63 Borecky J, Nogueira F T S, de Oliveira K A P, et al. The plant energy-dissipating mitochondrial systems: Depicting the genomic structure and the expression profiles of the gene families of uncoupling protein and alternative oxidase in monocots and dicots. *J Exp Bot*, 2006, 57: 849–864
- 64 Nogueira F T S, Sasaki F T, Maia I G. *Arabidopsis thaliana* uncoupling proteins (*AtUCPs*): Insights into gene expression during development and stress response and epigenetic regulation. *J Bioenerg Biomembr*, 2011, 43: 71–79
- 65 Hanák P, Ježek P. Mitochondrial uncoupling proteins and phylogenesis—UCP4 as the ancestral uncoupling protein. *FEBS Lett*, 2001, 137–141
- 66 Ito-Inaba Y, Hida Y, Inaba T. What is critical for plant thermogenesis? Differences in mitochondrial activity and protein expression between thermogenic and non-thermogenic skunk cabbages. *Planta*, 2009, 231: 121–130
- 67 Ito-Inaba Y, Masuko H, Watanabe M, et al. Isolation and gene expression analysis of a papain-type cysteine protease in thermogenic skunk cabbage (*Symplocarpus renifolius*). *Biosci Biotech Biochem*, 2012, 76: 1990–1992
- 68 Onda Y, Kato Y, Abe Y, et al. Functional coexpression of the mitochondrial alternative oxidase and uncoupling protein underlies thermoregulation in the thermogenic florets of skunk cabbage. *Plant Physiol*, 2008, 146: 636–645
- 69 Ito-Inaba Y, Hida Y, Matsumura H, et al. The gene expression landscape of thermogenic skunk cabbage suggests critical roles for mitochondrial and vacuolar metabolic pathways in the regulation of thermogenesis. *Plant Cell Environ*, 2012, 35: 554–566
- 70 Onda Y, Mochida K, Yoshida T, et al. Transcriptome analysis of thermogenic *Arum concinatum* reveals the molecular components of floral scent production. *Sci Rep*, 2015, 5: 8753
- 71 Liu X, Cao D, Ji X, et al. miRNAs play essential roles in the floral thermogenesis of *Magnolia denudata* (Magnoliaceae). *Trees*, 2015, 29: 35–42
- 72 Moraru A, Cakan-Akdogan G, Strassburger K, et al. THADA regulates the organismal balance between energy storage and heat production. *Dev Cell*, 2017, 41: 72–81.e6
- 73 Betzer C, Lassen L B, Olsen A, et al. Alpha-synuclein aggregates activate calcium pump SERCA leading to calcium dysregulation. *EMBO Rep*, 2018, 19: e44617
- 74 Chemaly E R, Troncone L, Lebeche D. SERCA control of cell death and survival. *Cell Calcium*, 2018, 69: 46–61
- 75 Li S, Sun T, Ren H. The functions of the cytoskeleton and associated proteins during mitosis and cytokinesis in plant cells. *Front Plant Sci*, 2015, 6
- 76 Schwarz N, Leube R E. Intermediate filaments as organizers of cellular space: How they affect mitochondrial structure and function. *Cells*, 2016, 5: 30
- 77 Westermann B. Mitochondrial fusion and fission in cell life and death. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, 11: 872–884

Perspectives on functions of AOX and UCP in floral thermogenesis

LI Jing¹, CAO DeChang², LIU LiYa¹, WANG ZhongSi¹ & WANG RuoHan¹

1 College of Biological Sciences and Biotechnology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China;

2 College of Life Sciences and Oceanography, Shenzhen University, Shenzhen 518060, China

Some plants can produce a considerable amount of heat in flowers. The animal-like thermogenesis plays various roles in multiple biological processes, which is critical in reproduction of plants. Great attention has been drawn to explore floral thermogenesis and the underlying regulatory mechanisms. Recent advances in far-red thermal imaging provided fundamental technical support for real-time monitoring of floral thermogenesis and precise detection of the thermogenic tissues. Alternative oxidase (AOX) and uncoupling proteins (UCPs) are crucial mitochondrial proteins involved in regulation of floral thermogenesis. The current review summarizes recent studies on functions of AOX and UCPs in floral thermogenesis and their regulatory mechanisms. Especially, the association between functions of AOX/UCPs and cellular metabolism has been emphasized. Moreover, latest reports on several non-canonical thermogenic pathways independent upon AOX/UCPs have been discussed. By reviewing recent progresses on regulatory mechanisms of floral thermogenesis, we come to a perspective of systematic views into the roles of mitochondria as functional units in floral thermogenesis, which should be tested in future studies.

floral thermogenesis, mitochondrion, energy metabolism, AOX, UCP

doi: [10.1360/SSV-2019-0198](https://doi.org/10.1360/SSV-2019-0198)