

几种氧化酶活性与植物对二氧化硫抗性的研究

植物本底及受污染后酶活性大小与抗性的关系

邓立杰

(广西植物研究所)

STUDIES ON SEVERAL OXIDASE ACTIVITY AND
RESISTANCE OF PLANTS TO SULFUR DIOXIDE

Relationship between enzyme activity and resistance of
non-polluted and polluted plants to SO₂

Deng Li-jie

(Guangxi Institute of Botany)

摘要: 对27种不同抗性等级植物本底(未经污染处理的正常植物)多酚氧化酶、抗坏血酸氧化酶和过氧化物酶活性测定结果,植物本底多酚氧化酶活性与抗性有呈负相关的趋势,抗坏血酸氧化酶和过氧化物酶活性大小与抗性不具规律性。

对植物受不同浓度SO₂污染后酶活性变化分析结果看出,蚬木(抗性植物)和汗斑草(敏感植物)在浓度达受阈前,多酚氧化酶、抗坏血酸氧化酶和过氧化物酶均有随浓度的升高而酶活性逐渐增大的趋势,仅是不同的酶其活性高峰在不同浓度梯度中出现迟早不同而已。在污染浓度达受阈后,随着浓度的继续增大,酶活性逐渐下降。而白蝉(抗性植物)和大猪屎青(敏感植物)有的酶具有规律性,有的酶不具有这种规律性。

用使可见伤害达50%的SO₂污染汗斑草后4小时(一次污染),过氧化物酶活性为0.34(未受污染的为12.69),仅为未受污染的2.68%,降低了97.32%,但24小时后为7.68,为未受污染的60.52%,比受污染后4小时提高了57.84%,72小时后为8.52,为未受污染的67.13%,比受污染后4小时提高了65.45%。多酚氧化酶亦具有这种规律性。说明二氧化硫对这两种酶的抑制作用是可逆的。

引 言

关于酶活性与植物对SO₂抗性的关系,苏联Илькѳн对欧洲松等13种植物过氧化氢酶、过氧化物酶和多酚氧化酶以及植物对Cl₂、SO₂和NO₂的抗性进行了研究,据认为SO₂、

• 王奕正同志参加1980年工作,陆菱妹同志参加1980、1981年和1982年部分工作,李西丽和广西师院生物系79级黄乘明、范振芳同学参加1922年工作,本文承陈锐章同志提出修改意见,均此致谢!

Cl₂和NO₂使过氧化氢酶钝化,污染物浓度越高,叶片受害越严重,酶活性降低越大。……多酚氧化酶活性变化情况和过氧化氢酶差不多,但变化幅度没有那么大^[1]。Niemtur, S. (1979)对波兰Zyglinek炼锌厂附近6个不同产地的34个品系的苏格兰松针叶测定过氧化物酶活性结果指出,以过氧化物酶活性作为污染伤害指标是有缺陷性的^[6]。Kiyoshi, T., 等(1980)报导,叶中SOD(超氧化物歧化酶)活性提高与增加对SO₂毒性的抗性有关^[6]。李振国等(1981),用SO₂对小麦叶片熏气,结果认为,同一叶片的前半叶伤害比后半叶重,过氧化物酶也以前半叶为大,说明过氧化物酶活性提高与伤害有一定的关系^[4]。

本文报导植物本底多酚氧化酶、过氧化物酶和抗坏血酸化酶活性大小及植物受二氧化硫污染后酶活性的变化与抗性的关系。

材 料 和 方 法

1. 植物对二氧化硫抗性的筛选

供试植物为栽培在广西植物研究所标本园内的各种不同龄的成年树。

筛选方法:将含6%二氧化硫的亚硫酸配成等级差为250ppm各级浓度,将植物叶片在其中浸30秒,取出,待其自然干燥,4小时和24小时后分别记录受害症状。经1000ppm浓度处理,24小时后不出现可见伤害症状的列为抗性植物,750ppm不出现可见伤害症状的为次抗植物,500ppm不出现可见伤害症状的为弱抗植物,250ppm 4小时出现可见伤害症状的为敏感植物。

2. 酶活性测定方法

按1961年武汉大学植物生理学实验讲义实验十二方法进行,稍有变动。pH=7,反应温度为20℃,抗坏血酸为4mg/ml。

1) 酶液制备方法

被测植物均为清洁的当年长成叶,按1克叶片40毫升提取液(pH=7磷酸盐缓冲液)的比例称取叶片,冰上研磨,冰箱中(3—5℃)提取30分钟,然后用每分钟3000转离心5分钟,取上清液作酶活性测定。

2) 酶活性大小及植物伤害程度的表示方法

酶活性以每小时每克叶片(鲜重)含抗坏血酸毫克数表示(毫克抗坏血酸/克/小时)。伤害程度的表示方法,“O”为叶片未出现可见伤害症状,“+”为叶片出现可见伤害症状在25%以下,“++”为叶片伤害达50%左右,“+++”为叶片伤害达75%以上。

酶活性测定从1980—1982年重复了3—6次。

实 验 结 果

一、植物本底酶活性大小与抗二氧化硫的关系。

对27种不同抗性等级植物多酚氧化酶、抗坏血酸氧化酶和过氧化物酶活性测定结果见表1—4。

表1 抗性植物本底酶活性

植 物 名 称	多酚氧化酶	抗坏血酸氧化酶	过氧化物酶
剑 麻	-0.28	0.88	2.62
蜆 木	0.46	2.03	0.77
罗 裙 带	1.24	1.44	3.81
橙 子	3.4	6.33	95.21
金 心 卫 矛 蝉	3.91	1.96	13.37
白 叶 黄 杨	4.06	6.98	19.97
大 叶 黄 杨	4.89	1.29	4.91

表2 次抗植物本底酶活性

植 物 名 称	多酚氧化酶	抗坏血酸氧化酶	过氧化物酶
中 果 油 茶	-0.77	0.97	1.30
情	-0.15	2.27	73.05
小 果 油 茶	0.25	1.53	1.41
亮 叶 腊 梅	2.18	3.28	27.3
柿	2.77	0.53	4.18
蒲 葵	3.03	0.39	37.63
竹 柏	5.98	1.06	13.2
铁 树	9.01	0.61	83.49
含 笑	17.83	1.7	6.53
桂 花	63.34	3.13	21.51

表3 几种弱抗性植物本底酶活性

植 物 名 称	多酚氧化酶	抗坏血酸氧化酶	过氧化物酶
黄 枝 油 杉	1.71	2.31	13.52
罗 汉 松	2.06	0.13	0.20
木 笔	3.98	3.35	12.28
深 山 含 笑	9.89	2.5	24.40

表4 敏感植物本底酶活性

植 物 名 称	多酚氧化酶	抗坏血酸氧化酶	过氧化物酶
三尖叶猪屎豆	2.11	3.46	6.03
大 猪 屎 苣	8.80	3.67	8.78
糯 米 草	11.85	1.26	-6.01
假 兰 蕨	12.80	4.34	9.04
癩 子 草	41.17	3.27	-25.16
汗 斑 草	48.00	3.02	7.51

从表1和表4比较看出,抗性植物多酚氧化酶活性较小,在-0.28至4.89之间,敏感植物酶活性较大,在2.11至48之间。而抗坏血酸氧化酶和过氧化物酶活性大小与抗性不具规律性。

二、植物受不同浓度二氧化硫污染后酶活性变化

将蚬木 *Burretiodendron hsienmu*、白蝉 *Gardenia jasminoides var. fortuneana* (抗性植物)和汗斑草 *Strobilanthes maclurei*、大猪屎青 *Croralaria assamica Benth.* (敏感植物)叶片浸泡于不同浓度SO₂中30秒,取出,待其自然干燥,24小时后测定酶活性,结果如下:

1.植物受不同浓度SO₂污染后多酚氧化酶活性的变化

从图1—2看出,蚬木(抗性植物)和汗斑草(敏感植物)受不同浓度SO₂污染后随着污染浓度的增大,多酚氧化酶活性逐渐上升,在污染浓度达受伤阈前酶活性达最高峰,在受伤阈后,浓度继续增大,酶活性逐渐下降。

白蝉受不同浓度SO₂污染后,多酚氧化酶活性与污染浓度呈负相关。大猪屎青受不同浓度SO₂污染后,多酚氧化酶有所下降。但浓度继续增大,酶活性又逐渐上升。

综上所述,植物受不同浓度SO₂污染后,多酚氧化酶活性变化规律不一致。

2.植物受不同浓度SO₂污染后抗坏血酸氧化酶活性的变化。

从比较蚬木、白蝉、汗斑草和大猪屎青受不同浓度SO₂污染后,抗坏血酸氧化酶活性的变化看出(图3,4),蚬木、汗斑草和大猪屎青在受伤阈前,随浓度的增高而酶活性逐渐增大。蚬木在浓度达受伤阈时酶活性达最高峰,而汗斑草和大猪屎青则在受伤阈前达最高峰。白蝉不具此规律性,而是在受伤阈后,抗坏血酸氧化酶仍有增大的现象。

3.植物受不同浓度SO₂污染后过氧化物酶活性的变化。

图5、6表明,不同浓度SO₂污染抗性植物蚬木、白蝉和敏感植物汗斑草后,在受伤阈前,过氧化物酶活性随污染浓度的增高酶活性逐渐增大,在受伤阈后,浓度继续增高,酶活性逐渐下降。但不同植物酶活性高

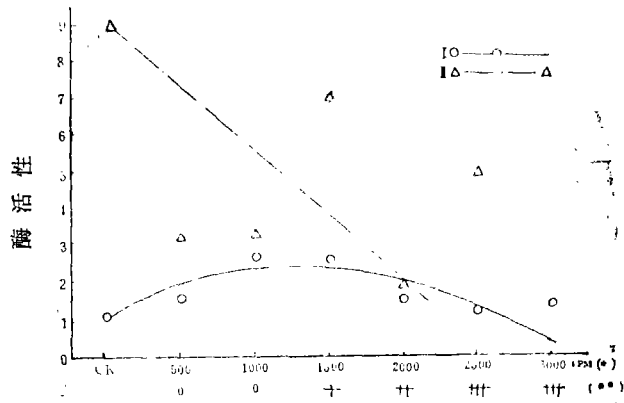


图1 不同浓度SO₂污染抗性植物后多酚氧化酶活性变化情况

I 蚬木; II 白蝉 * 污染浓度; ** 伤害程度

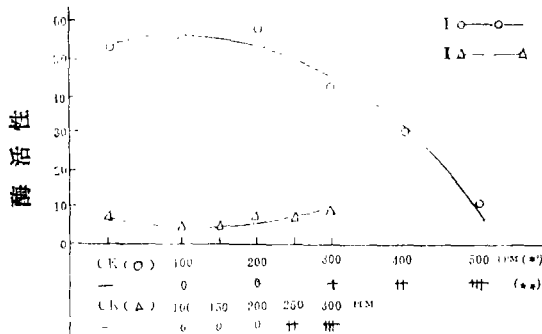


图2 不同浓度 SO₂ 污染敏感植物后多酚氧化酶活性变化情况

I 汗斑草; II 大猪屎青。
* 污染浓度; ** 伤害程度

峰出现迟早不同。而大猪屎青的过氧化物酶不具上述规律性，在受伤阈后，污染浓度继续增高，酶活性仍有增大的现象。

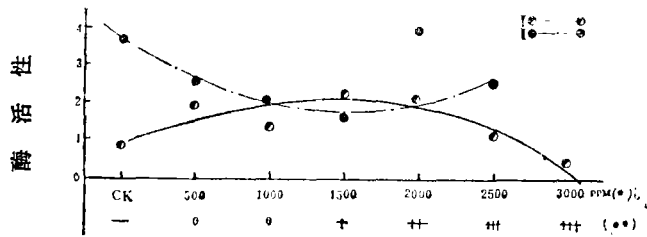


图3 不同浓度SO₂污染抗性植物后抗坏血酸氧化酶活性变化情况 (I 蝼蛄; II 白蝉)

图4 不同浓度SO₂污染敏感植物后抗坏血酸氧化酶活性变化情况 (I 汗斑草; II 大猪屎青)

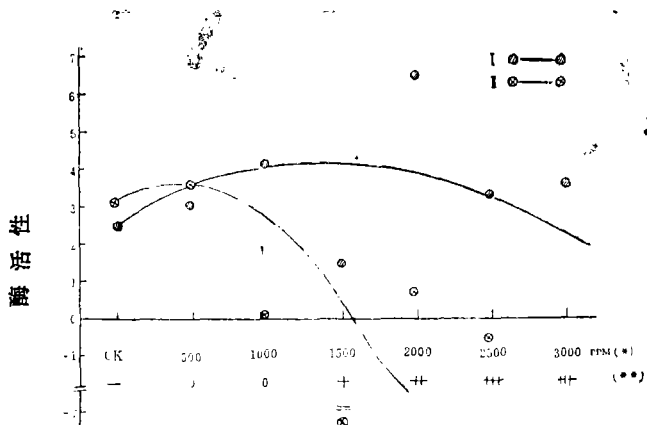
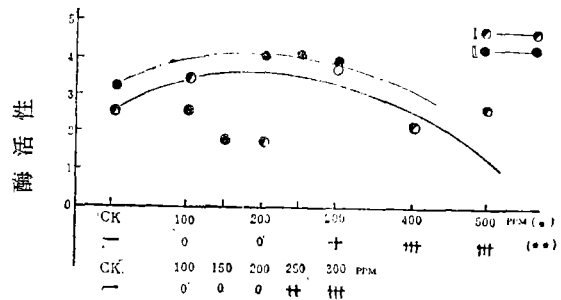
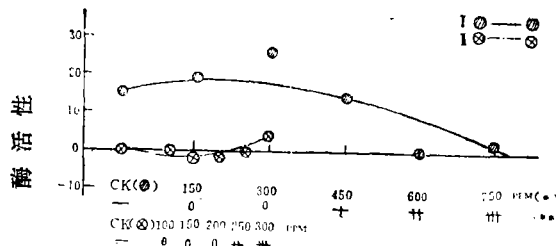


图5 不同浓度SO₂污染抗性植物后过氧化物酶活性变化情况 (I 蝼蛄; II 白蝉)

图6 不同浓度SO₂污染敏感植物后过氧化物酶活性变化情况 (I 汗斑草; II 大猪屎青)



三、植物受SO₂污染后酶活性恢复的能力

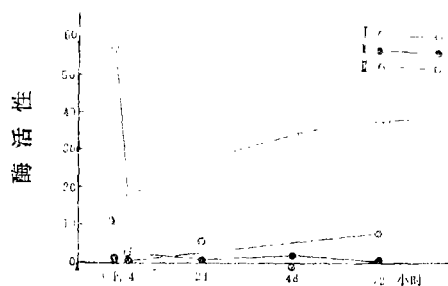


图7 用450ppm SO₂ (可见伤害达50%) 污染汗斑草后不同时间酶活性恢复能力

I 多酚氧化酶； II 抗坏血酸氧化酶； III 过氧化物酶

图7指出, 受使可见伤害达50%的SO₂浓度(450ppm)污染汗斑草后4小时, 过氧化物酶活性为0.34(未受污染的为12.69), 仅为未受污染的2.68%, 降低了97.32%, 但24小时后为7.68, 为未受污染的60.52%, 比受污染后4小时提高了57.84%, 72小时后为8.52, 为未受污染的67.13%, 比受污染后4小时提高了65.45%。多酚氧化酶亦具有这种规律性。说明二氧化硫对这两种酶的抑制作用是可逆的。抗坏血酸氧化酶不具有这种规律性。

讨 论

本文的目的之一是试图通过酶活性大小的测定, 寻求是否可以植物本底氧化酶活性大小作为筛选植物抗SO₂的指标。但从表1-4比较看出, 仅多酚氧化酶活性与抗性有呈负相关的趋势, 而抗坏血酸氧化酶和过氧化物酶与抗性不具规律性。因此, 不能用氧化酶活性的大小来筛选植物对SO₂的抗性等级。

据报导, “抗坏血酸氧化酶和脱氢酶的钝化, 将显著地提高二氧化硫对叶的伤害”〔2〕。我们观察到只有当污染浓度达受伤阈后, 抗坏血酸氧化酶活性变化情况才与上述报导相符。同时我们还观察到, 在受伤阈前, 抗坏血酸氧化酶活性则随浓度的升高而增大。

苏联(Илькун)对欧洲松、胡桃、丁香和花秋等13种植物研究结果认为: “氯、二氧化硫和二氧化氮进入叶片后, 使过氧化氢酶钝化, 污染浓度越高, 酶的活性降低越大, 甚至在还没有出现可见伤害的情况下, 过氧化氢酶活性就降低了30%, 过氧化物酶的情况就不同了, 在没有出现可见伤害时, 活性就提高, 很少停留在原有水平的, 这证明酸性气体有促进

过氧化物酶合成的作用。多酚氧化酶活性变化的情况和过氧化氢酶差不多，但变化幅度没有那么大”〔1〕。

关于多酚氧化酶活性，我们实验的结果，仅有白蝉和在SO₂浓度达受伤阈后的蚬木、汗斑草酶的变化才与 Илькун 的结果相符。蚬木和汗斑草，在受伤阈前，SO₂浓度增高，酶活性增大；而不像 Илькун 所描述那样，甚至在还没有出现可见伤害症状的情况下，酶活性就降低了30%。我们实验的结果说明，受SO₂污染后，不同植物多酚氧化酶活性变化规律不同。至于酶的变化幅度，Илькун说：“多酚氧化酶活性变化幅度没有那么大。”我们观察结果，蚬木和大猪屎青酶的变化幅度与 Илькун 所得结果相符。而白蝉和汗斑草，酶的变化幅度则较大。如图1的白蝉。在未受SO₂污染时，酶活性为9（毫克抗坏血酸/克鲜重/小时），而受到2000ppm SO₂污染后（可见伤害达50%），酶活性仅为2，相差4.5倍，图2的汗斑草亦然，未受SO₂污染时，酶活性为53.74，而受到500ppm SO₂污染后（可见伤害达100%），酶活性仅为11.12，相差4.83倍。

关于过氧化物酶活性，Илькун 的描述没有指出受伤阈前后酶活性的变化情况，这是不足之处，而 Илькун 所述的变化，我们实验的结果仅在受伤阈前才与其报导相符。但在受伤阈后，随着SO₂浓度的增高，过氧化物酶活性逐渐减小，而不像 Илькун 所述那样，酸性气体有促进过氧化物酶合成的作用。

关于 Thomas, M. D. (1961) 和 Brandt, C. S., et al (1968) 提出的有关植物对SO₂的反应中是否存在所谓不可见伤害或隐藏伤害问题，余叔文等(1979)研究植物受SO₂污染后质膜透性变化规律，结果认为：“植物对SO₂的反应中，可能不存在所谓不可见伤害或隐藏伤害”〔3〕。我们用不同浓度SO₂（含SO₂的亚硫酸溶液）污染植物后，研究酶活性变化规律，结果蚬木和汗斑草的多酚氧化酶、抗坏血酸氧化酶和过氧化物酶活性，在受伤阈前随着浓度的升高，酶活性逐渐增大；在受伤阈后，浓度继续增大，酶活性逐渐下降。根据这一结果，我们认为，植物在受到低于可见伤害的SO₂污染后，酶活性的增高（或下降），都说明这是植物受不良的外界因素影响后的不正常的反应，是伤害的内在标志，仅是由于程度尚低，还未至于引起可见伤害而已。因此，植物受SO₂污染后，不可见伤害或隐藏伤害可能是存在的。

参 考 文 献

- 〔1〕北京林学院主编，1979：植物生理学，农业出版社，316—317
- 〔2〕余叔文等，1979：植物对二氧化硫的反应和抗性机理的研究—质膜透性的变化和二氧化硫伤害，植物生理学报，5（4）：402—410
- 〔3〕李振国等，1981：植物对二氧化硫的反应和抗性的研究—SO₂熏气对小麦叶片过氧化物酶的影响，植物生理学报，7（4）：363—371
- 〔4〕F. A., 1982, 41（2）：76
- 〔5〕Tanaka, K. et al, 1980: Plant and Cell Physiology 21（4）：601—611