

二氧化硫对小麦细胞保护酶活性的影响

孙建伟

(临沂大学 生命科学院, 山东 临沂 276005)

摘要:为探讨 SO_2 对小麦幼苗主要细胞保护酶的影响, 现采用酶活性测定技术, 测定了 SO_2 熏气处理后小麦幼苗体内过氧化氢酶、过氧化物酶、超氧化物歧化酶等酶活性的变化。结果表明: 用 $50 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ 的 SO_2 熏气处理后, 小麦幼苗叶片细胞中 CAT 和 SOD 的活性下降, POD 的活性升高。因此, $50 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ 的 SO_2 熏气处理对小麦不同细胞保护酶的影响是不同的, 细胞保护酶活性的高低在 SO_2 对小麦的伤害和小麦对 SO_2 的抗性中可能具有重要的作用。

关键词: SO_2 ; 小麦; 细胞保护酶; 影响

中图分类号: S512 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-2767(2016)02-0027-03 **DOI:** 10.11942/j.issn1002-2767.2016.02.0027

二氧化硫(SO_2)是我国当前最主要的大气污染物之一, 各种含硫石油和煤燃烧时产生大量的 SO_2 , 因此石油加工厂、有色金属冶炼厂、硫酸厂等是 SO_2 气体的重要来源^[1]。 SO_2 可对植物叶片的形态结构及生理生化过程产生影响, 对植物的危害较大, 可通过气孔进入叶片细胞后快速溶于细胞液中, 形成亚硫酸盐和二硫化物, 抑制光合作用等, 或诱导植物产生活性氧(ROS), 造成氧化胁迫伤害^[2]。迄今, 人们在寻求提高植物抗性以减轻或消除 SO_2 伤害方面做了大量工作。小麦是世界上最早栽培的农作物之一, 是一种营养丰富、经济价值较高的商品粮。研究 SO_2 对小麦的影响, 对农业部门采取防护措施以减轻农作物损失, 有着重要的现实意义。

植物细胞保护酶特别是超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)等在植物的抗逆性中具有非常重要的作用。研究 SO_2 对植物细胞保护酶的影响, 可以为植物抗逆性品种的选育提供理论指导和试验依据。本研究以小麦为材料, 研究 SO_2 熏气处理对小麦幼苗细胞中 SOD、POD、CAT 等酶活性的影响, 探讨小麦细胞保护酶与小麦的抗逆性之间的关系, 为小麦抗 SO_2 机理研究及耐 SO_2 小麦品种的培育提供初步的实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为邯 7086 小麦种子, 购自山东省临沂市农资城。

1.2 方法

1.2.1 幼苗培养 挑选籽粒饱满的小麦种子种植在塑料花盆(直径约 18 cm)中, 每个花盆中分装等量的土壤, 尽可能多播一些种子, 以备选择生长状况一样的幼苗进行试验。每次试验都设置对照组和试验组, 重复 3 次, 种植后置于温室中常规栽培管理, 待其生长至 20 cm 时供试验用。

1.2.2 熏气装置及 SO_2 气体的获得 采用简易自制密闭式熏气装置, 用塑料布将一纸箱内侧密封。纸箱大小: $110 \text{ cm} \times 60 \text{ cm} \times 30 \text{ cm}$, 可同时对两盆小麦幼苗进行熏气。根据熏气装置的体积大小和硫燃烧的反应式: $\text{S} + \text{O}_2 \rightarrow \text{SO}_2$, 计算出所用硫粉末的量。用电炉将瓷质小盘加热到一定温度, 然后将称量好的硫粉末倒入瓷盘中, 连同称量纸一起燃烧。

1.2.3 SO_2 熏气浓度的确定 先进行预试验, 通过点燃不同量的升华硫粉, 产生不同浓度的 SO_2 气体, 分别熏气处理小麦幼苗 2 h, 1 d 后观察小麦幼苗伤害情况, 选择使小麦幼苗伤害症状比较明显且浓度较低的 SO_2 浓度作为正式试验所用的 SO_2 浓度。经过比较, 最后确定 SO_2 的处理浓度为 $50 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ 。

1.2.4 材料处理及酶液提取 当小麦幼苗生长至约 20 cm 时进行 SO_2 熏气处理, 试验组用 $50 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ 的 SO_2 熏气处理 2 h, 对照组不做任何处理, 分别于 SO_2 熏气处理完成后 0、1、2、3、4、5 d

收稿日期: 2015-12-15

作者简介: 孙建伟(1969-), 男, 山东省兰陵县人, 硕士, 讲师, 从事植物分子生物学研究。E-mail: sjwei369@163.com。

取叶片提取酶液供试验用。重复3次。采用文献^[3]的方法提取酶液。将酶提取液分移至1.5 mL离心管,每管200 μL ,于 -20°C 冰箱保存。

1.2.5 测定项目及方法 CAT活性采用文献^[4]的方法测定。以消耗 H_2O_2 $\mu\text{mol}\cdot(\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW})$ 为单位表示CAT活性。POD活性采用愈创木酚法进行测定^[5]。比色波长为470 nm。POD活性以 $\Delta A_{470}\cdot(\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}\text{FW})$ 为单位表示。SOD活性根据文献^[6]的方法测定,采用抑制NBT光化还原的百分数或用抑制NBT光化还原50%为一个酶活性单位。材料处理与酶活性测定均重复3次,取平均值作为酶的活性,用Excel作图分析酶活性的动态变化。

2 结果与分析

2.1 SO_2 处理对小麦幼苗CAT活性的影响

从图1可以看出,用 $50\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}\text{SO}_2$ 对实验组小麦幼苗进行熏气处理后,小麦叶片细胞中的CAT活性是下降的。第一次取样(即刚熏气处理后0 h取样)CAT活性的下降幅度最大,当去除 SO_2 气体后,实验组的CAT活性逐渐恢复,到第4天后,实验组的CAT活性基本接近对照组。在取样时间内,实验组的CAT活性明显低于对照组。由此可见,用 $50\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}\text{SO}_2$ 熏气处理,可使小麦幼苗中CAT的活性降低,当去除 SO_2 气体后,CAT的活性又逐渐恢复,直到接近对照组。CAT活性的高低可能与小麦对 SO_2 胁迫的抗性有关。

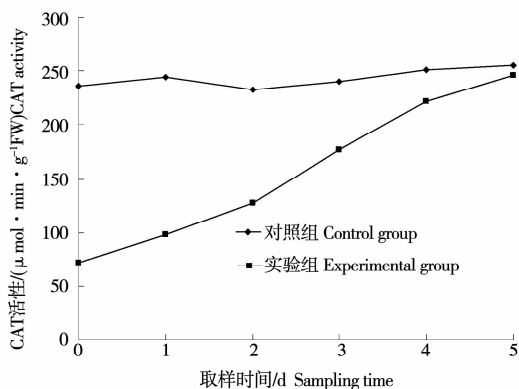


图1 $50\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}\text{SO}_2$ 气体处理后,小麦叶片细胞CAT活性的动态变化

Fig. 1 Dynamic changes of CAT activity in wheat leaves cells after treated with $50\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}\text{SO}_2$

2.2 SO_2 处理对小麦幼苗POD活性的影响

从图2可以看出,用 $50\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}\text{SO}_2$ 对实验组小麦幼苗进行熏气处理后,小麦叶片细胞中POD

的活性是升高的。在几次取样时间内,实验组的POD活性一直明显高于对照组,在去除 SO_2 气体后,实验组的POD活性也逐渐恢复,到第5天时,实验组的POD活性基本接近对照组,但仍然高于对照组。由此可见,用 $50\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}\text{SO}_2$ 熏气处理,可使小麦幼苗中POD的活性升高。POD活性的高低可能也与小麦对 SO_2 的抗性有关。

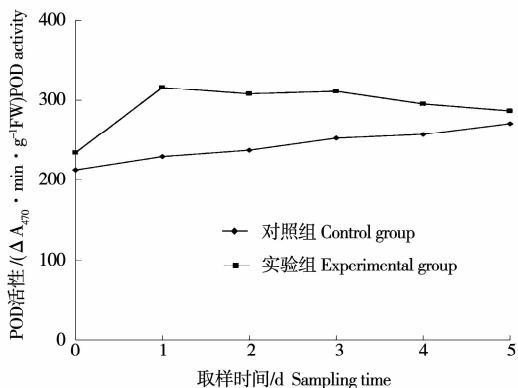


图2 $50\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}\text{SO}_2$ 气体处理后,小麦叶片细胞POD活性的动态变化

Fig. 2 Dynamic changes of POD activity in wheat leaves cells after treated with $50\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}\text{SO}_2$

2.3 SO_2 处理对小麦幼苗SOD活性的影响

从图3可以看出,用 $50\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}\text{SO}_2$ 对实验组小麦幼苗进行熏气处理后,小麦叶片细胞中SOD的活性是降低的。在几次取样时间内,实验组的SOD活性都低于对照组。SOD活性的高低可能也与小麦对 SO_2 胁迫的抗性有关。

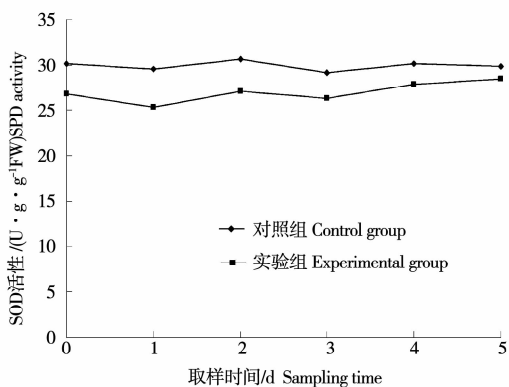


图3 $50\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}\text{SO}_2$ 气体处理后,小麦叶片细胞SOD活性的动态变化

Fig. 3 Dynamic changes of SOD activity in wheat leaves cells after treated with $50\text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}\text{SO}_2$

3 结论与讨论

植物的抗性机制涉及从植株到器官、组织、生

理生化直至分子的各个水平。在植物抵御各种逆境的过程中,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)等细胞保护酶起着举足轻重的作用,它们能维持植物体内活性氧的动态平衡,阻止膜脂过氧化,减轻对细胞的伤害^[7]。这些酶活性的高低是衡量植物抗逆性的重要指标之一。

CAT在维持植物体内活性氧代谢平衡中起着重要的作用^[8],是植物细胞中重要的抗氧化酶之一,CAT酶活性随SO₂浓度的增大而降低,抗性强的植物增减比率明显低于敏感植物。如杨明明等的研究认为在SO₂胁迫条件下小麦种子的CAT活性随着胁迫时间的延长先迅速上升而后下降^[9]。在本试验中,用50 mg·m⁻³的SO₂熏气处理后,小麦幼苗叶片细胞中的CAT活性下降。当去除SO₂气体后,小麦幼苗叶片细胞中CAT活性又逐渐恢复到正常水平。CAT活性大小的变化可能与小麦对SO₂的抗性有一定的关系,是小麦对SO₂抗性的重要机制之一。

POD是一种重要的抗氧化酶,普遍存在于植物体中,它在植物的生长发育过程中会有明显的变化,对各种环境条件的反应也非常敏感。植物受到SO₂胁迫时,体内的POD酶活性与SO₂浓度间呈正相关^[10],抗性强的植物POD酶活性上升速率明显高于敏感植物。如李振国等^[11]观察到SO₂熏气对小麦过氧化物酶活性有促进作用;宋旸等^[12]的研究表明,经SO₂处理后,小麦品种的幼苗根和叶片中的POD活性均高于对照组。这与本试验的结果是一致的。在本试验中,用50 mg·m⁻³的SO₂熏气处理后,小麦幼苗叶片细胞中的POD活性是升高的,当去除SO₂气体后,POD的活性也逐渐恢复到原来的水平。POD活性的高低可能也与小麦对SO₂的抗性有一定的关系。

SOD也是一种重要的抗氧化剂,在各种生物中广泛存在,可以催化超氧化物通过歧化反应转化为氧气和过氧化氢^[13]。生物体内低浓度的超氧化物阴离子自由基是维持生命活动所必需的,但浓度过高时,可引起机体组织细胞氧化损伤,甚至死亡^[14]。郝林等^[2]的研究表明,当通入10和40 μl·L⁻¹ SO₂时,小麦叶片中超氧阴离子自由基含量递增,超氧化物歧化酶(SOD)活性降低。王学府等^[15]认为,当植株叶片出现明显可见的伤害症状后,即当SO₂超过某一阈值时,SOD酶活性

与SO₂浓度间呈负相关,植物出现伤害症状。在本实验中,50 mg·m⁻³的SO₂熏气浓度已经使小麦幼苗出现明显的伤害症状,所以用50 mg·m⁻³的SO₂熏气处理后,小麦幼苗叶片细胞中SOD的活性降低,这与前人的实验结果是一致的。同时也表明了SOD活性的高低可能也与小麦对SO₂胁迫的抗性有关。

总之,植物在接触致害剂量的污染后,体内会发生一系列生理生化变化,以适应生存环境,植物体内的抗氧化酶和很多代谢过程都会受到或多或少的影响^[16]。SOD、POD和CAT是植物细胞中最重要的抗氧化酶,植物只有依靠这些抗氧化酶相互协调,共同作用,才能清除机体内的活性氧,减轻对细胞的伤害,从而维持正常的生命活动。

参考文献:

- [1] 张金恒,李曰鹏,韩超,等. SO₂污染环境下水稻导数光谱与生理生化指标的相关性研究[J]. 国土资源遥感,2008(4): 43-46.
- [2] 郝林,张惠文,徐昕,等. 二氧化硫对小麦的氧化胁迫及其某些信号分子的调节[J]. 应用生态学报,2005,16(6): 1038-1042.
- [3] 罗广华,王爱国. 植物同工酶活性显示的某些干扰[J]. 植物生理学通讯,1993,29(2):119-122.
- [4] 波钦诺克 X H. 植物生物化学分析方法[M]. 荆家海,丁钟荣,译. 北京:科学出版社,1981,12(1):203-207.
- [5] 吴岳轩,曾富华,王容臣. 杂交稻对白叶枯病的诱导抗性与细胞内防御系统关系的初步研究[J]. 植物病理学报,1996,26(2):127-131.
- [6] Giannopolitis C N, Rice S K. Superoxide dismutase. I. Purification and quantitative relationship with water-solute protein in seedlings[J]. Plant Physiol, 1997, 59:315-318.
- [7] 陈莉. SO₂对小麦幼苗生理生化指标的影响[J]. 江苏农业科学,2013(11):68-70.
- [8] Ransburg fondue A, Samson R, Lemurs R, et al. Effects of osmotic drought stress induced by combination of NaCl and polyethylene glycol on leaf water status, photosynthetic gas exchange, and water use efficiency of Pistoia Chinju and P metical [J]. Photosynthetica, 2002, 40:165-169.
- [9] 杨明明,冯颖,郭太君. SO₂和Cl₂气体胁迫对茶条槭4种非酶类保护剂的影响[J]. 吉林农业:学术版,2011(5):88-89.
- [10] 张军,李素清,狄晓艳,等. 山西工矿区土壤二氧化硫与多环芳烃复合污染对小麦种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 生态毒理学报,2012(6):646-656.
- [11] 李振国,吴有梅,刘愚,等. 植物对二氧化硫的反应和抗性研究—Ⅶ. SO₂熏气对小麦叶片过氧化物酶的影响[J]. 植物生理报,1981(4):363-371.
- [12] 宋旸,裴冬丽. 盐胁迫对小麦幼苗POD活性和同工酶的影响[J]. 湖北农业科学,2011,50(9):1759-1761.