



孙建伟.同工酶电泳分析二氧化硫对小麦的影响[J].黑龙江农业科学,2020(1):25-27.

# 同工酶电泳分析二氧化硫对小麦的影响

孙建伟

(临沂大学 生命科学学院,山东 临沂 276005)

**摘要:**为阐明植物对二氧化硫的抗性机制,以小麦为试验材料,采用同工酶电泳技术,初步研究了二氧化硫对小麦幼苗主要抗氧化酶同工酶的影响。结果表明:用  $50 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$   $\text{SO}_2$  熏气处理后,小麦幼苗叶片细胞中 CAT 活性下降,当不再熏气后,CAT 活性又逐渐恢复,POD 和 SOD 活性升高。因此, $50 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$   $\text{SO}_2$  胁迫对小麦细胞中不同抗氧化酶的影响是不同的,这些抗氧化酶活性的高低在小麦对  $\text{SO}_2$  的抗性中可能具有重要的作用。

**关键词:**同工酶电泳;二氧化硫;小麦;抗氧化酶;影响

二氧化硫( $\text{SO}_2$ )是扩散最为广泛的一种大气污染物,近年来,中国的  $\text{SO}_2$  年均排放量仍在 2 000 万 t 以上<sup>[1]</sup>。 $\text{SO}_2$  对环境的影响主要包括对土地、湖泊与河流的酸化,以及对植物的伤害<sup>[2]</sup>。虽然某些植物种类因受到污染就消失于污染地带,但大多数植物程度不同地都具有一定的抗性,在污染环境中仍能生长繁殖。植物细胞抗氧化酶与植物的抗逆性具有很密切的关系,如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)等在植物抵御干旱、低温、高氧胁迫等逆境时起着很重要的作用。在逆境胁迫时,植物体内的抗氧化系统会发生适应性改变,以提高植物对逆境的适应性。关于  $\text{SO}_2$  对植物影响的研究,已经积累了很多的资料,如  $\text{SO}_2$  对植物的光合作用、质膜透性、抗氧化酶的活性、细胞凋亡等很多方面的影响<sup>[3-4]</sup>,也有人在基因和分子水平上来研究植物对  $\text{SO}_2$  的抗性机理<sup>[5]</sup>。但仍有一些问题没有解决,如植物对  $\text{SO}_2$  抗性的分子机制有待于进一步的研究, $\text{SO}_2$  对植物的间接影响也不十分清楚等。小麦是三大谷物之一,也是我国最重要的农产品之一,研究二氧化硫对小麦的影响,具有极为重要的现实意义。本文以小麦为试验材料,采用同工酶电泳技术,初步研究  $\text{SO}_2$  胁迫对小麦幼苗的影响,特别是对小麦细胞中主要抗氧化酶的影响,为小麦抗逆机理研究提供一定的实验基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料

试验材料选用泰山 23 小麦种子,从山东省临

沂市种子市场购买。

### 1.2 方 法

1.2.1 幼苗培养 准备 12 个花盆(直径约 20 cm),6 盆用于试验,6 盆用于预试验,将土壤粉碎混匀,每个花盆都分装等量的土壤。将泰山 23 小麦种子种植在花盆中,注意常规管理,待其生长至约 20 cm 时进行试验,挑选长势一致的幼苗进行试验处理。每次处理都设试验组和对照组,共重复 3 次。

1.2.2 熏气装置及  $\text{SO}_2$  气体的获得及浓度控制 进行  $\text{SO}_2$  熏气和获得  $\text{SO}_2$  气体采用文献[6]的方法,通过设置 20,30,40,50,60,70  $\text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$   $\text{SO}_2$  浓度对 6 盆小麦幼苗进行预试验,观察小麦幼苗的受伤害程度,选择较低的  $\text{SO}_2$  浓度而且小麦幼苗有一定的伤害症状,此时的  $\text{SO}_2$  浓度  $50 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$  确定为本试验所采用的熏气浓度。

1.2.3 材料处理 处理时将小麦幼苗分为试验组和对照组,用  $50 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$  的  $\text{SO}_2$  熏气处理实验组幼苗,对照组不作任何处理,熏气处理 2 h 后立即取叶片提取酶液,以后每隔 1 d 取 1 次样,共取样 5 次。熏气处理重复 3 次。

1.2.4 提取酶液 采用罗广华和王爱国的方法<sup>[7]</sup>提取酶液。于  $-20^\circ\text{C}$  冰箱分装保存备用。

1.2.5 聚丙烯酰胺凝胶电泳 使用垂直板电泳仪对酶液进行电泳,参照 Davis 的方法<sup>[8]</sup>。酶液上样量都是 30  $\mu\text{L}$ ,以 0.007 5% 的溴酚蓝作为前沿指示剂,当前沿位于浓缩胶时恒压为 150 V,当前沿进入分离胶时恒压为 250 V,电泳时间大约 2 h,以指示剂到达分离胶前沿约 1 cm 时结束电泳。

1.2.6 同工酶谱染色 CAT 同工酶染色:电泳结束后,取下凝胶,放入 0.5% 的过氧化氢中漂洗 1~2 min,倒去漂洗液,再用含冰醋酸最终浓度为

收稿日期:2019-08-14

作者简介:孙建伟(1969-),男,硕士,讲师,从事植物抗逆生理学研究。E-mail: sjwei369@163.com。

0.5%的酸化的0.5%的KI溶液染色3~5 min,观察照相。

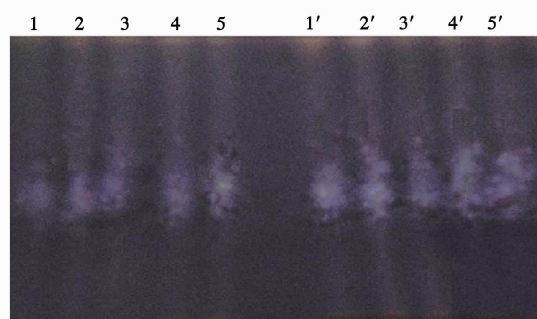
POD同工酶染色:参照文献[9]的方法进行,用联苯胺-冰乙酸染色。

SOD同工酶染色:参照文献[10]的方法进行,先用 $2.45 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的NBT溶液在黑暗环境中浸泡凝胶20 min,再用含 $2.80 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  Temed和 $2.80 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的核黄素的 $3.6 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的磷酸缓冲液在光照下浸泡15 min。最后放在 $5 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸钠缓冲液中浸泡,光照一直到条带清晰。

## 2 结果与分析

### 2.1 $\text{SO}_2$ 处理后小麦幼苗CAT同工酶酶谱分析

从图1可以看出,50  $\text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$   $\text{SO}_2$ 熏气处理2 h后,试验组中CAT活性是下降的,试验组1的图谱明显比对照组1'减弱,当不再熏气后,试验组中CAT活性又逐渐增强,1→5的谱带依次增强,但在试验时间内,试验组的CAT活性都比对照组的要弱。这说明50  $\text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$   $\text{SO}_2$ 熏气处理可使小麦叶片细胞中CAT活性降低,当不再熏气后,CAT活性又逐渐恢复。



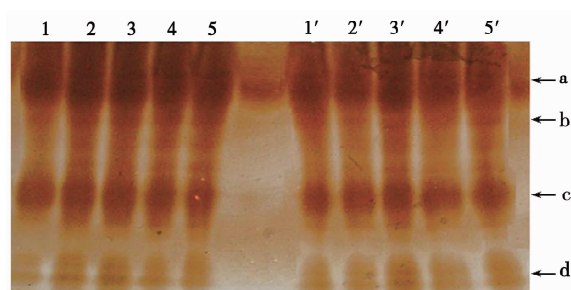
1~5: 试验组; 1'~5': 对照组  
1-5: Experimental groups; 1' -5': Control groups

图1 50  $\text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$   $\text{SO}_2$ 熏气处理后小麦叶片细胞中CAT同工酶电泳图

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

### 2.2 $\text{SO}_2$ 处理后小麦幼苗POD同工酶酶谱分析

从图2可以看出,50  $\text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$   $\text{SO}_2$ 熏气处理2 h后,试验组和对照组中均呈现一定数目的POD谱带,如图中a、b、c、d等谱带。其中有一条非常明显的主谱带a,从第1次取样开始,a带试验组的POD谱带颜色和宽度明显比对照组深和宽,即POD谱带强度强于对照组,这说明用50  $\text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$   $\text{SO}_2$ 熏气处理后,小麦叶片细胞中POD酶活性是增强的。



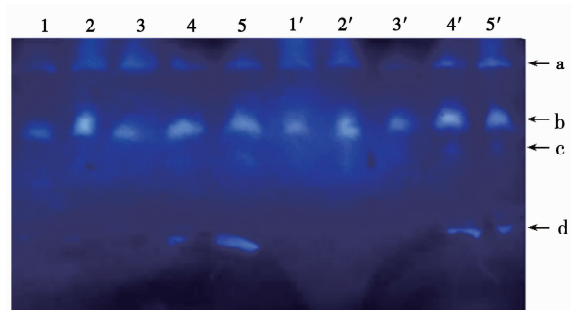
1~5: 试验组; 1'~5': 对照组  
1-5: Experimental groups; 1' -5': Control groups

图2 50  $\text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$   $\text{SO}_2$ 熏气处理后小麦叶片细胞中POD同工酶电泳图

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

### 2.3 $\text{SO}_2$ 处理后小麦幼苗SOD同工酶酶谱分析

从图3可以看出,50  $\text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$   $\text{SO}_2$ 熏气处理2 h后,试验组和对照组中均呈现出a、b、c、d四条SOD酶谱带,从a、b、c三条谱带来看,试验组和对照组中SOD同工酶谱带强度变化不明显,而在d谱带中,试验组的SOD同工酶谱带强度则强于对照组。这说明经50  $\text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$   $\text{SO}_2$ 熏气处理后,小麦幼苗叶片细胞中SOD的酶活性还是有所增强的,但增强幅度不大。



1~5: 试验组; 1'~5': 对照组  
1-5: Experimental groups; 1' -5': Control groups

图3 50  $\text{mg} \cdot \text{m}^{-3}$   $\text{SO}_2$ 熏气处理后小麦叶片细胞中SOD同工酶电泳图

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

## 3 结论与讨论

正常的情况下,植物代谢都会产生活性氧自由基,但通常植物体内的抗氧化酶会将产生的自由基转化,从而不对植物体产生影响<sup>[11]</sup>。植物在遭到 $\text{SO}_2$ 等逆境胁迫时,细胞内的抗氧化系统会发生适应性改变,从而达到防护作用<sup>[12]</sup>。植物体内SOD、CAT、POD等抗氧化酶的含量高低,与植物的抗逆能力具有非常重要的关系<sup>[12]</sup>。

几乎所有生物中都有超氧化物歧化酶(SOD)

的存在,它在植物抵御逆境方面起着非常重要的作用<sup>[13]</sup>。研究表明,SOD 的活性在一定浓度的 SO<sub>2</sub>熏气处理上是升高的。如韩亚琦等人用紫叶矮樱做熏气实验,发现在低浓度下,SOD 的活性是升高的,但二氧化硫的浓度超过一定值后,抗氧化酶的活性开始下降,超氧化物歧化酶(SOD)活性也呈现下降趋势<sup>[14]</sup>。在本试验中,用 50 mg·m<sup>-3</sup> SO<sub>2</sub>熏气处理小麦幼苗 2 h 后,通过聚丙烯酰胺凝胶电泳分析表明,小麦细胞中的 SOD 活性稍有增强,但幅度不大,这与前人的研究结果基本上是一致的,SOD 活性的增强可能与小麦对 SO<sub>2</sub>的抗性有一定的关系。

超氧化物歧化酶把超氧物自由基转化为过氧化氢,但过氧化氢还需要过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)将其分解为完全无害的水<sup>[12]</sup>。

过氧化氢酶(CAT)与植物的抗逆性也有着密切关系。如窦宏伟等<sup>[15]</sup>的研究表明,随着 SO<sub>2</sub>胁迫浓度增加,桑树叶片中的过氧化氢酶(CAT)的活性先升后降。在本试验中,用 50 mg·m<sup>-3</sup> SO<sub>2</sub>熏气处理小麦幼苗 2 h 后,同工酶电泳的结果表明,小麦细胞中的 CAT 活性是降低的,这与仪慧兰等<sup>[12]</sup>的研究结果相同。CAT 活性的变化可能与小麦对 SO<sub>2</sub>的抗性有一定的关系。

植物体的 POD 是一种活性较高的酶。研究表明,SO<sub>2</sub>对植物体内的 POD 有促进作用,如在低浓度 SO<sub>2</sub>熏气下,桑树叶片中的 POD 活性较对照逐渐升高,在高浓度 SO<sub>2</sub>胁迫下,POD 活性呈现先升后降的趋势<sup>[15]</sup>。在本试验中,用 50 mg·m<sup>-3</sup> SO<sub>2</sub>熏气处理小麦幼苗 2 h 后,同工酶电泳的结果表明,小麦细胞中的 POD 活性是增强的。说明 POD 活性的增强可能与小麦对 SO<sub>2</sub>的抗性也有一定的关系。

通过以上分析和讨论可以得出:用 50 mg·m<sup>-3</sup> SO<sub>2</sub>熏气处理小麦幼苗 2 h 后,小麦叶片细胞中

CAT 同工酶活性降低,不再熏气后,CAT 同工酶活性又逐渐恢复。POD 和 SOD 的某些同工酶活性升高。这些同工酶活性的变化可能与小麦对 SO<sub>2</sub>的抗性有一定关系。

#### 参考文献:

- [1] 刘睿劫,张智慧. 中国工业二氧化硫排放趋势及影响因素研究[J]. 环境污染与防治 2012,34(10):100-104.
- [2] 孙荣庆. 我国二氧化硫污染现状与控制对策[J]. 能源与环境,2003,25(7):25-28.
- [3] 高登涛,李秋利,魏志峰,等. 植物对二氧化硫胁迫反应与应答机制研究进展[J]. 广东农业科学,2016,43(11):27-35.
- [4] 付宝春,魏爱丽,翟晓燕,等. NO、ROS 对 SO<sub>2</sub>诱导的万寿菊保卫细胞凋亡的调控[J]. 环境科学学报,2015,35(7):2289-2296.
- [5] Lee Su Young, Cheon Kyeong Seong, Kim So Young, et al. Enhanced resistance to sulfur dioxide gas in transgenic petunia by stacking both SOD2 and NDKP2 genes[J]. Korean Journal of Horticultural Science & Technology, 2016, 34(1):154-162.
- [6] 孙建伟. 二氧化硫对小麦细胞保护酶活性的影响[J]. 黑龙江农业科学,2016(2):27-29.
- [7] 罗广华,王爱国. 植物同工酶活性显示的某些干扰[J]. 植物生理学报,1993,29(2):119-122.
- [8] Davis B J. Disc Electrophoresis-II method and application to human serum proteins[J]. Annals of the New York Academy of Sciences,1964,121(2):404-427.
- [9] 吴少伯. 植物组织中蛋白质及同工酶的聚丙烯酰胺凝胶盘状电泳[J]. 植物生理学通讯,1979(1):30-33.
- [10] 王爱国,罗广华,邵从本,等. 小麦种子超氧化物歧化酶的研究[J]. 植物生理学报,1983,9(1):79-83.
- [11] 王府,狄红梅,曹秋芬,等. 二氧化硫对植物生理特性影响的研究进展[J]. 山西农业科学,2014,42(4):422-424.
- [12] 仪慧兰,李秀娟,刘静. 二氧化硫对大麦幼苗的氧化损伤效应[J]. 生态环境,2008,17(4):442-445.
- [13] 周颀. 二氧化硫对植物的影响[J]. 三峡环境与生态,2013(4):24-27.
- [14] 韩亚琦,李向应,李彦慧. 紫叶矮樱对二氧化硫胁迫的生理响应[J]. 北方园艺,2012(16):7362-7364.
- [15] 窦宏伟,周菲,谢清忠,等. SO<sub>2</sub>胁迫对桑树部分生理生化特性的影响[J]. 蚕业科学,2010,36(1):126-131.

## Effects of Isozyme Electrophoresis Analysis on the Sulfur Dioxide of Wheat

SUN Jian-wei

(College of Life Science, Linyi University, Linyi 276005, China)

**Abstract:** In order to elucidate the mechanism of plant resistance to sulfur dioxide, the effects of sulfur dioxide on the main antioxidant enzymes of wheat seedlings were elementary studied by using isozymes electrophoresis. The results showed that CAT activity was decreasing after being treated with 50 mg·m<sup>-3</sup> SO<sub>2</sub>. When SO<sub>2</sub> was removed, the CAT activity restored gradually. Both POD and SOD activity in experimental groups increased according to isozyme electrophoresis pattern. So we concluded that 50 mg·m<sup>-3</sup> SO<sub>2</sub> stress had different effects on different antioxidant enzymes in wheat. The activity of these antioxidant enzymes may play an important role in the resistance of wheat to SO<sub>2</sub>.

**Keywords:** isoenzyme electrophoresis; sulfur dioxide; wheat; antioxidant enzyme; effect