

说明拟定的方法对于 17-KS 含量 偏高 或 偏低的尿样都是适用的。 本测定中常规进样量为 0.5 微克左右。

2. 色谱分析的精密密度与准确度: 对已知配比的 标准样品的测定结果表明, 拟定的色谱条

表 3 收率实验结果和与文献值比较

组 份	收率%*	文献值% ^[6]	文献值% ^[7]
A	79.5±11.5	98±22	98.3±5.8
D	88.2±9.7	98±22	70.0±7.5
P	104.0±6.9	93±13	—

* 各组份含量为 0.03 毫克的标准样品的四次测定平均值及其标准偏差。

表 4 分析结果 (毫克)

组份 编号	A	D	P
1	2.31	0.38	0.69
2	2.54	0.23	0.64
3	2.49	0.21	0.56
4	2.93	0.24	0.68
5	2.34	0.28	0.55
6	2.30	0.24	0.50
平均值	2.49	0.27	0.60
标准偏差	±0.24	±0.06	±0.08
正常值 ^[8]	2.0—5.0	0.2—2.0	0.2—1.2

件有适当的准确度和测量精度 (表 2)。
3. 收率: 将配制的标准混合物加到尿水解产物中,按拟定的实验方法进行萃取,衍生物制备,色谱测定,然后计算方法的收率 (表 3)。
4. 分析结果: 正常人 (男性) 24 小时尿中 17-KS 和 P 组份的分析结果列于表 4。测定值均在文献列出的正常值范围内。

结 束 语

本文主要报告用普通的国产气相色谱仪进行多组份 17-KS 色谱分析的最佳实验条件。拟定的实验条件与简便的酸解法结合,得到比较满意的结果,方法可作为例行分析使用。

参 考 文 献

[1] Horning, E. C. et al.: *Anal. Biochem.*, **2**, 182, 1961.
[2] Vanden Heuvel, W. J. A. et al.: *Anal. Biochem.*, **4**, 191, 1962.
[3] Kirschner, M. A. et al.: *Clinical Endocrinology and Metabolism*, **23**, 255, 1963.
[4] Kirschner, M. A. et al.: *Steroids*, **3**, 3, 277, 1964.
[5] 正田芳郎等: 分析化学, **17**, 6, 741, 1968.
[6] Sanghvi, A. et al.: *Clinica Chimica Acta*, **56**, 49—57, 1974.
[7] Ruchelman, M. W. et al.: *Clin. Chem.*, **12**, 11, 771, 1966.
[8] Tietz, N. W.: *Lab. Diagnosis of Endocrine Diseases*, p. 525, 1971.
[9] Wotiz, H. H. et al.: *J. Chromatog. Sci.*, **11**, 4, 167, 1973.

[本文于 1978 年 12 月 27 日收到]

不同大气压力对稻芽体内多酚氧化酶、过氧化物酶和抗坏血酸氧化酶活性的影响*

叶如欣 张明农 郑进胜
(安徽劳动大学)

不同氧分压对水稻以及其他植物种子发芽和酶活性的影响,已有不少报道^[5,8,11,14]。过去对水分、氧气、温度等影响种子发芽及酶活性变化的机理,已研究得较为清楚,并在农业生产实践

上得到了应用^[4, 16]。作为生物重要生态因子之一的大气压力对生物的作用,过去仅知高压能

* 王天云、桂旺来、鲍健雄等同志参加了部分分析工作,特此致谢。

引起蛋白质变性,至于其他作用,尤其是对农作物生长发育的影响,尚未见报道。因此我们就大气压力对农作物生长发育的影响,进行了初步的研究与探讨。

多酚氧化酶、过氧化物酶和抗坏血酸氧化酶,是植物细胞中普遍存在的氧化酶,它们在植物细胞呼吸代谢过程中担负着相当重要的作用。而且这三种酶活性的高低很易受植物本身生理状况和外界条件的改变而发生变化^[3,4,6],因而常可把它们的活性高低作为衡量植物生活力强弱乃至抗逆性强弱的指标之一^[4,6,7]。在水稻种子萌发过程中,胚乳内贮藏的营养物质转化成建成器官物质(转化率)的高低,对三叶期以前秧苗素质如何,影响很大,也直接影响秧苗的抗寒力^[2,12,13]。

本试验采用不同大气压力处理萌动稻种,然后测定稻芽体内多酚氧化酶、过氧化物酶和抗坏血酸氧化酶的活性,物质转化率及其他形态学上的变化,以研究它们与气压的关系,企图查明气压的作用机制和利用气压处理种子获得有益变化的可能。

材 料 与 方 法

材料 供作试验的材料为水稻 (*Oryza sativa* L. 品种“先锋一号”)。为了检查处理后引起细胞透性改变情况,本试验还选用洋葱鳞茎作为处理的辅助材料。

方 法

1. 仪器装置——耐压容器为泡沫灭火器钢筒(耐压 25 公斤/厘米²,容积 5,000 毫升)改装,具体装置详见图 1。

2. 处理方法——称取稻种四份,每份 50 克,分别置于 250 毫升烧杯中,25℃ 自来水浸泡 48 小时,沥干,自来水冲洗后,以 0.2% 氯化高汞溶液灭菌 15 分钟,用无菌水冲洗 4—5 遍。然后从每份材料中用四分法各取 15 粒稻种均匀地铺在 $\phi 7.5$ 厘米的培养皿中,供处理后分析形态及测定干重用。

三份材料分别装入钢筒密闭后,进行减压(抽气)和加压(充气)处理。减压至 0.05 大气

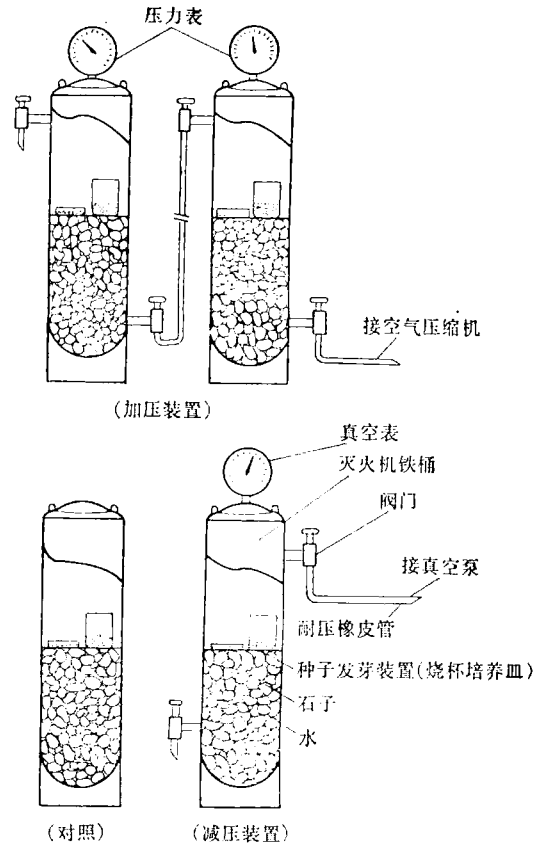


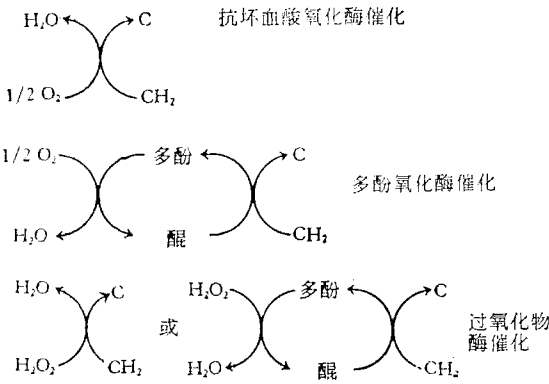
图 1 不同气压处理种子示意图

压,加压处理分别为 3.5 和 7.0 大气压。将第四份稻种放入钢筒内,不抽气也不加压,保持正常的大气压力作为对照。处理在 27℃ 下进行,时间为 150 小时。

3. 测定

酶液提取: 处理后立即用蒸馏水冲洗稻芽,滤纸吸干表面水份,各称取 10 克(连谷粒)置组织捣碎机内,加 100 毫升冷冻至 5℃ 的磷酸缓冲液 (pH6.8),捣碎 6 分钟,匀浆,于室温下静置 10 分钟,放入冰箱内冷却至 5℃,离心 20 分钟(4,000 转/分钟)。离心结束时样品温度约为 7℃,倾出上清液于 500 毫升容量瓶中,加磷酸缓冲液至刻度,即为分析用的酶液,放入冰箱中待测。

酶活性测定^[1,10,15]: 根据下列反应,可测得抗坏血酸(CH₂)消耗量。



具体做法是在酶液中和已加过蛋白质沉淀剂三氯乙酸（作空白滴定）的酶液中分三种处理，①只加 CH₂，②加 CH₂ 和磷苯二酚，③加 CH₂、磷苯二酚和 H₂O₂。作用一定时间后，用三氯乙酸中止反应（已加过的不再复加），以碘液滴定，分别求出 CH₂ 消耗量。①为抗坏血酸氧化酶活性，②-①为多酚氧化酶活性，③-②为过氧化物酶活性。

形态与干重测定：处理后，立即测量各处理培养皿内 15 粒稻芽的芽鞘长、真叶长、根长（以根鞘长为准）和根数。测量后的材料，迅速用蒸汽杀死，再放入 65℃ 烘箱中，烘至恒重，秤出干重。

结果与讨论

不同气压处理对芽鞘长、真叶长、根长和根数的影响见图 2。对干重和转化率的影响见表

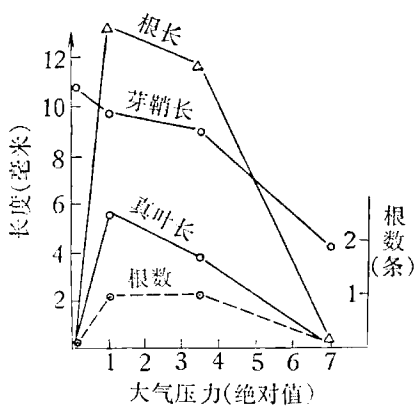


图 2 不同气压处理对水稻根、芽生长的影响 (15 粒稻芽平均值)

1。从图 2 和表 1 可见，减压至 0.05 大气压处理，除对芽鞘伸长有明显促进作用外，对根、叶长度、根数以及建成器官干重均表现一定程度的抑制作用。相反该处理谷粒的干重损失最大，转化率仅为 9.0%，可能是因缺氧严重，影响了有氧呼吸过程（有氧呼吸酶类活性低可获得证明），从而抑制了正常的细胞分裂，致使根、真叶的生长受到了抑制。而芽鞘一般来说是预成器官，在以后发芽过程中基本上是靠细胞的液泡化而伸长，这一过程可以依借无氧呼吸，消耗较多的有机物质来提供能量。这从该处理稻芽转化率低这一事实可得以证明。

表 1 不同气压处理对水稻根、芽干重的影响 (15 粒芽平均值)

处理 (大气压)	建成器官 干重 (毫克) (根、芽干重)	单位长度 干重 (毫克/毫米)	稻谷残留 干重 (毫克)	损失干重 (毫克)	转化率** (%)
0.05	4.6	0.42	254.1	46.4	9.0
1.0 (对照)	15.0	0.67	266.8	23.1	39.4
3.5	16.3	0.78	269.5	19.2	45.9
7.0	4.0	0.91	269.5	31.5	11.3

* 15 粒稻种干重为 305.0 毫克，减去残留干重和根、芽干重后即为损失干重。

** 转化率 = $\frac{\text{根、芽干重}}{\text{稻种干重} - \text{残留干重}} \times 100\%$ 。

7.0 个大气压处理的稻芽，在很多方面表现出与减压相类似。但从芽鞘长度也严重受抑和不缺氧两点来看，我们认为稻芽受抑制的原因是不同的。考虑到多种因素可以改变生物膜组成或结构^[18,19,20]，初步设想，可能是细胞的生物膜遭受损害，导致细胞功能部分受损或全部丧失。从设置的辅助材料洋葱，经 7.0 气压处理后，也观察到几乎所有细胞都失去选择性通透能力，可见生物膜受损确实是存在的。因此，可以认为该处理干重损失较大的原因是部分物质外渗所造成的。

3.5 大气压处理的稻芽，在各方面均表现出不同程度的有利影响，特别是转化率高和参与有氧呼吸的三种酶类活性特高 (247%)。我们设想，在 3.5 个大气压下，萌动的稻芽进行着较合适的生理活动。至于是否 3.5 个大气压为水

稻发芽的最适气压,仍需进一步研究。

不同气压对抗坏血酸氧化酶、多酚氧化酶和过氧化物酶等的活性的影响是十分显著的。从图 3、表 2 可见,0.05 和 7.0 个大气压处理的酶活性均低于对照(多酚氧化酶稍有例外),而 3.5 个大气压处理的其体内三种酶活性均大为提高,总活性竟为对照的 247%。这一有利影响和上面所提到的经 3.5 个气压处理的稻芽在形态上、物质转化率上表现的有利作用是相吻合的。因此,我们认为进一步深入地研究 3.5 个大气压导致酶活性提高的作用方式与机理是十分必要的。

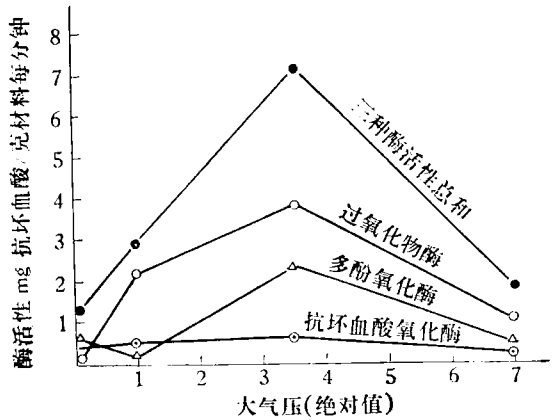


图 3 不同气压处理水稻对几种酶活性的影响
(30℃ 时测定)

表 2 不同气压处理对抗坏血酸氧化酶、多酚氧化酶和过氧化物酶活性的影响 (30℃)

处 理 (大气压)	三种酶总活性 毫克抗坏血酸/克·分钟	相对活性
0.05	1.20	41
1.0 (对照)	2.92	100
3.5	7.24	247
7.0	1.80	62

已知过氧化物酶的作用底物为过氧化氢或过氧化物,故从上面过氧化物酶活性提高这一点,即可推知催化形成过氧化氢和过氧化物的黄素蛋白酶类的活性也是较高的^[9]。有人报道^[4],呼吸酶类,特别是黄素蛋白酶类和过氧化物酶类活性的提高,对提高植物抗寒力是有利的。我们也曾将经过不同大气压处理的稻芽,播

种成苗后,进行低温冻害处理,观察到 3.5 大气压处理的秧苗在抗寒力上有所提高,这同前人报道及酶活性提高相吻合。因此,选择适当气压和适当时间处理萌动稻种以提高早稻秧苗的抗寒力,对水稻生产具有一定的实际价值。

从以上实验结果,可以认为,气压也是影响酶活性的因素之一。从洋葱鳞茎经 7.0 个大气压处理细胞丧失选择性通透性以及已知的高压能引起蛋白质变性等事实来看,气压的作用可能是:改变生物膜的结构和性质;改变酶分子的某些结构(高级结构上),特别是活性中心的一些极其细小改变^[17],导致细胞内酶活性的变化。

参 考 文 献

- [1] 山东农学院植物生理教研组:《植物生理学实验指导》1966 年版,95—97 页。
- [2] 王德宝:《科学通报》,1962 年,第 9 期,第 27—41 页。
- [3] 马炳章等:《植物生理学通讯》,1964 年,第 2 期,第 43—46 页。
- [4] 北京农业大学:《植物生理学》,农业出版社,1964 年。
- [5] 朱熹等:《植物学报》,1959 年,第 8 期,第 201—214 页。
- [6] 汤佩松等:《科学通报》1964 年,第 6 期,第 535 页。
- [7] 汤佩松等:《植物学报》1956 年,第 5 期,第 377 页。
- [8] 汤佩松等:《植物学报》,1959 年,第 8 卷,第 3 期,第 188—200 页。
- [9] 何笃修等:《植物学报》,1962 年,第 10 卷,第 1 期,第 35—42 页。
- [10] 林哲浦等:《植物生理学通讯》,1964 年,第 3 期,第 17—20 页。
- [11] 郭季芳:《植物学报》,1965 年,第 13 卷,第 3 期,第 265—269 页。
- [12] 湖北省农科所:《植物学杂志》,1977 年,第 10 期,第 22—23 页。
- [13] 廉平湖等:《植物生理学通讯》1963 年,第 2 期,第 10—12 页。
- [14] 潘瑞斌等:《植物生理学》1962 年版。
- [15] Балоцерский А. М. 等:(曹宗翼等译)《植物生物化学实验指导》,1957 年版,第 303—315 页。
- [16] Blackman, G. E.:《植物生理学译丛》,第 3 辑,第 49—59 页。
- [17] Gies, A. C. (高谨译):《细胞生理学》,科学出版社,1964 年,第 157—158 页。
- [18] Lyons, J. M. et al.: Plant Physiol., 45, 386—389, 1970.
- [19] Raison, J. K. et al.: Arch. Biochem. Biophys., 142, 83—90, 1971.
- [20] Timothy, R. Peoples: Plant Physiol., 61, 472—473, 1978.

[本文于 1978 年 11 月 24 日收到]