

AKTYWNOŚĆ OKSYDAZ MIEDZIO-PROTEIDOWYCH  
JAKO WSKAŹNIK ZAOPATRZENIA ROŚLIN W MIEDŹ*Maria Ruszkowska, Stanisława Łyszcz, Stanisław Sykut*

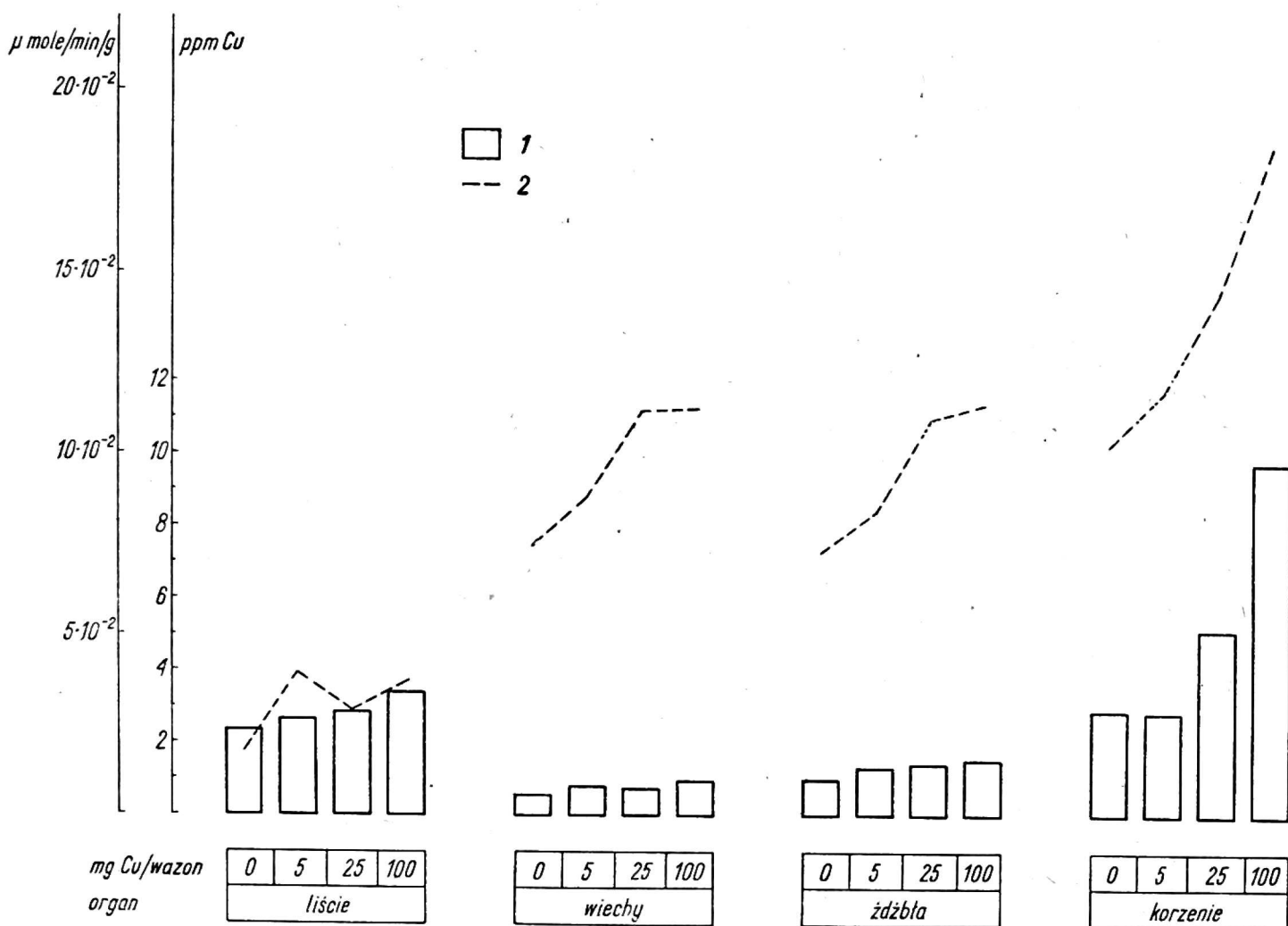
Pracownia Żywienia Roślin IUNG, Puławy, Osada Pałacowa

Próby wykrywania niedoborów mikroelementowych za pomocą określania aktywności specyficznych enzymów datują się od dość dawna. Wypowiadane są opinie [3, 4, 9, 10], że tą drogą niejednokrotnie można uzyskać pewniejsze wyniki, niż za pomocą zwykłych analiz chemicznych, zwłaszcza w przypadku wykrywania niedoborów ukrytych. W stosunku do miedzi wielokrotnie stwierdzono [1, 3, 4, 5, 6, 8], że przy braku tego składnika aktywność oksydazy askorbinianowej, bądź oksydazy katecholowej w roślinach była skrajnie niska w porównaniu ze znacznie wyższą aktywnością omawianych enzymów przy dostatnim zaopatrzeniu roślin w miedź. W związku z tym Perumal i Beattie [10], a następnie Bar-Akiva i in. [2] zaproponowali oznaczanie aktywności oksydazy askorbinianowej w liściach drzew owocowych — jako test diagnostyczny przy określaniu zapotrzebowania tych drzew na miedź.

Celem badań podjętych przez autorów [12, 13] było zagadnienie, czy aktywność oksydazy askorbinianowej bądź oksydazy katecholowej może być wskaźnikiem zaopatrzenia w miedź również jednorocznych roślin uprawnych.

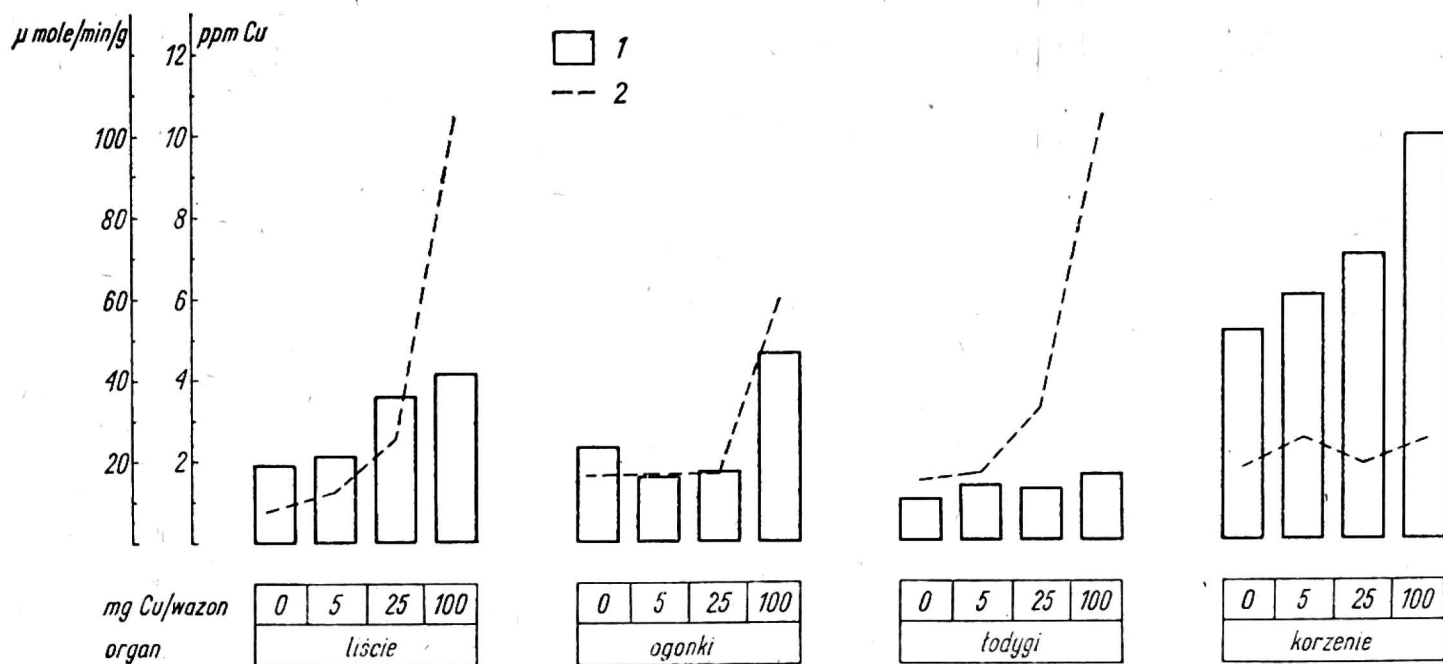
Badania rozpoczęto w latach 1971-1972 metodą doświadczeń wazonowych na dwóch glebach ubogich w przyswajalną miedź. W doświadczeniach zróżnicowano poziom nawożenia NPK oraz dawki Cu. W poszukiwaniu odpowiedniej rośliny testowej do doświadczeń wzięto: owies, rzepak jary, sałatę i słonecznik pastewny. Do oznaczeń enzymatycznych spośród kilku metod wybrano: 1) miareczkową metodę oznaczania aktywności oksydazy askorbinianowej według Ostrowskiej [8, 12] i 2) kolorymetryczną metodę oznaczania aktywności oksydazy katecholowej według Smitha i Stotza [12, 14]. Aktywność oksydazy askorbinianowej oznaczano w różnych organach owsa i rzepaku jarego, natomiast analizy dotyczące

aktywności oksydazy katecholowej przeprowadzono w różnych częściach słonecznika oraz w liściach sałaty. Analizy wykazały, że aktywność obu oksydaz zależała od: 1) gatunku i organu rośliny, 2) dawki Cu wprowadzonej do gleby, 3) w mniejszym natomiast stopniu — od poziomu nawożenia NPK. Zależności te przykładowo podane są na rysunkach 1 i 2.



Rys. 1. Wpływ dawek  $\text{CuSO}_4$  na aktywność oksydazy askorbinianowej i na zawartość miedzi w różnych organach owsa (odm. Przebój II, gleba nr 1, 1972 r.): 1 — zawartość miedzi, 2 — aktywność oksydazy askorbinianowej

W obu przypadkach rośliny rosły na torfie niskim, niedoborowym pod względem miedzi, przy różnych dawkach Cu wprowadzonych do gleby (0, 5, 25 i 100 mg Cu/wazon, zawierający 0,9 kg suchej masy torfu). Należy podkreślić, że dawki miedzi w istotny sposób wpłynęły na plon badanych roślin [11]. Z przedstawionych wyników wysnuto wniosek, że aktywność oksydazy katecholowej wydaje się być bardziej przydatna jako wskaźnik zaopatrzenia roślin w miedź niż aktywność oksydazy askorbinianowej. Mianowicie, w warunkach niedoboru miedzi aktywność tego enzymu w tkankach roślinnych była skrajnie niska, natomiast pod wpływem dawek  $\text{CuSO}_4$ , wprowadzonych do niedoborowej gleby, poziom oksydazy w roślinie gwałtownie wzrastał. Dogodnym obiektem badań oka-

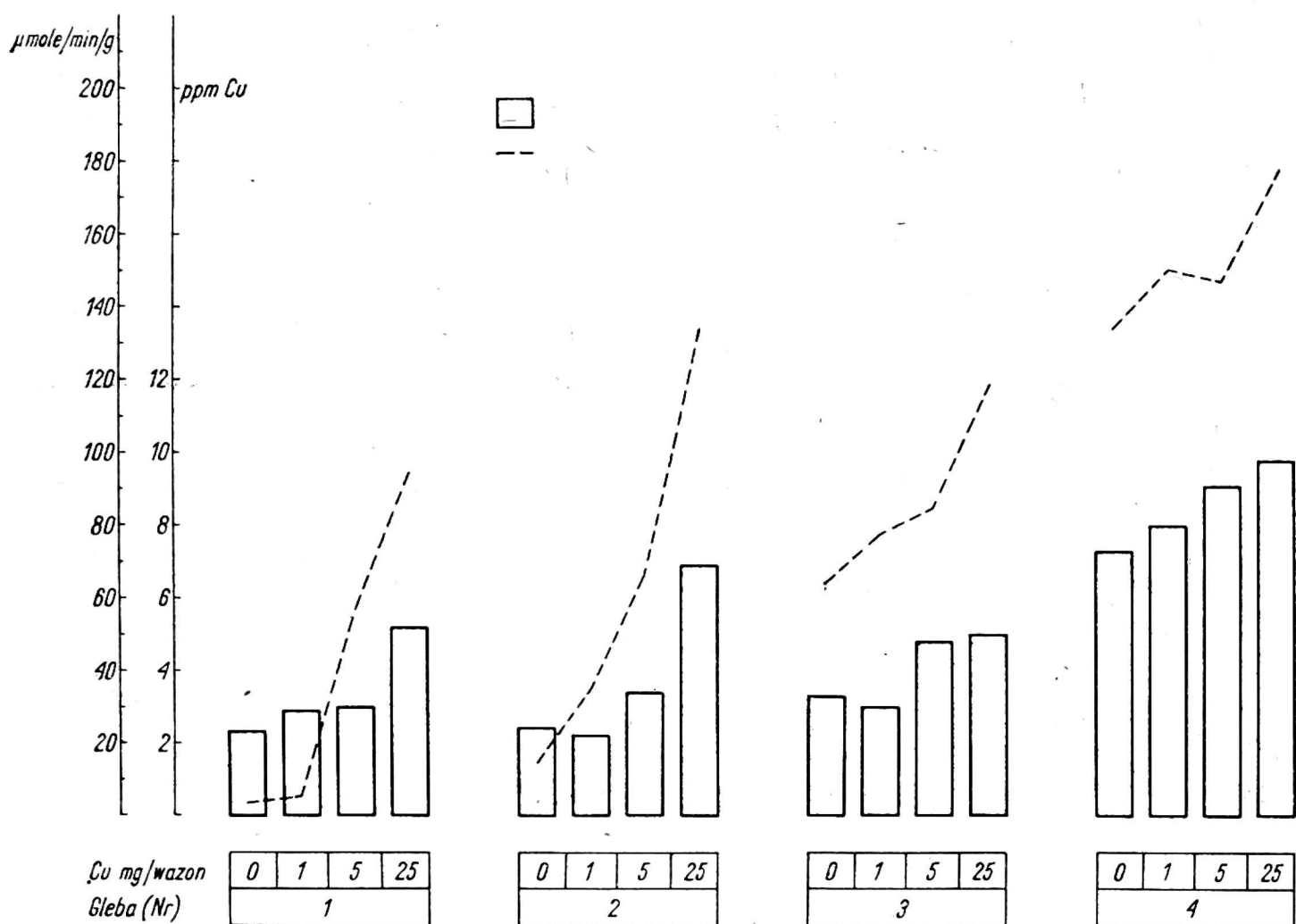


Rys. 2. Wpływ dawek  $\text{CuSO}_4$  na aktywność oksydazy katecholowej i na zawartość miedzi w różnych organach słonecznika pastewnego (odm. Wiernik, gleba nr 1, 1972 r.): 1 — zawartość miedzi, 2 — aktywność oksydazy katecholowej

Tabela

pH oraz zawartość przyswajalnej miedzi w wierzchnich warstwach (0-25 cm) gleb, stosowanych w badaniach, 1971-1973

Numer gleby	Miejscowość, użytek	Gleba	pH w 1n KCl	Zawartość przyswajalnej miedzi			
				w wyciągu Westerhoffa		wg metody <i>A. niger</i>	
				ppm Cu	zaopatrzenie w Cu	ppm Cu	zaopatrzenie w Cu
1	Obiekt doświadczalny IMUZ Chlebiotki Nowe pow. Zambrów, łąka	torf niski	5,6	0,70	niskie	ślady	niskie
2	Żuławka, PGR, pow. Wyrzysk, dolina Noteci, łąka	gleba murszowa	6,9	1,44	średnie	1,0	niskie/średnie
3	Borowina, RRZD Końskowola pow. Puławy, pole orne	piasek słabo gliniasty	4,6	1,38	niskie	1,25	średnie
4	Borowina, RRZD Końskowola pow. Puławy, dolina Wisły, łąka	mada pyłowa	6,9	8,46	dobre	10,0	dobre



Rys. 3. Zawartość miedzi w nadziemnych częściach i aktywność oksydazy katecholowej w liściach słonecznika pastewnego na różnych glebach i przy różnym poziomie nawożenia  $\text{CuSO}_4$ ; objaśnienia 1 i 2 jak na rysunku 2

zały się liście i górne części łodygi słonecznika pastewnego. W porównaniu do aktywności oksydazy katecholowej zawartość miedzi w roślinach zmieniała się w dużo mniejszym stopniu.

W celu sprawdzenia wysnutych wniosków na większym materiale przeprowadzono w roku 1973 dodatkowe doświadczenie w doniczkach ze słonecznikiem pastewnym, rosnącym na 4 glebach o różnej zasobności w przyswajalną miedź (tab.). Na każdej glebie zastosowano dawki  $\text{CuSO}_4$  w ilości 0, 1, 5 i 25 mg Cu na doniczkę (mieszczącą 0,5 kg gleby torfowej, 0,8 kg gleby murszowej, 2 kg piasku lub 1,5 kg mady). W fazie ukazania się pąków kwiatowych w górnych liściach oznaczono aktywność oksydazy katecholowej. Następnie rośliny ścięto i w nadziemnych częściach oznaczono zawartość miedzi (a także i innych mineralnych składników). Wyniki dotyczące aktywności oksydazy katecholowej i zawartości Cu w roślinach są przedstawione na rysunku 3. Pozwalają one stwierdzić, że w kombinacjach kontrolnych ( $\text{Cu} = 0$ ) aktywność badanej oksydazy była wprost proporcjonalna do zawartości miedzi w roślinach. Pod wpływem zastosowanych dawek miedzi aktywność oksydazy gwałtownie wzrastała w roślinach z gleb niedoborowych (gleba 1 i 2), natomiast

przy lepszym zaopatrzeniu w miedź (gleba 3 i 4) wzrost aktywności enzymu był już dużo mniejszy. Obliczenia statystyczne przy pomocy testu F wykazały istotność efektu liniowego dla współzależności między aktywnością oksydazy katecholowej ( $y = \mu\text{mole}/\text{min}/\text{g}$ ) a zawartością miedzi w badanych roślinach ( $x = \text{ppm Cu}$ ). Omawianą zależność ujęto w równanie:  $y = 19,919x - 12,703$ . Współczynnik korelacji między tymi dwiema zmiennymi wyniósł 0,933. Na podstawie wyników dotyczących składu mineralnego roślin [13] wydaje się oczywiste, że poza miedzią żaden inny z oznaczanych składników (N, P, K, Mg, Ca, Mn, Mo) nie stał w związku przyczynowym ze stwierdzonymi zmianami w aktywności oksydazy katecholowej.

Biorąc pod uwagę aktywność oksydazy katecholowej w roślinach jako kryterium oceny zasobności gleb w przyswajalną miedź należy przyjąć, że gleba torfowa i gleba murszowa były niedoborowe, piasek słabo gliniasty — średnio zasobny, a mada — zasobna w ten składnik. W porównaniu z analizą gleby według metody Westerhoffa (tab.) ocena ta jest zgodna w stosunku do gleby torfowej i mady, natomiast mniej zgodna — w przypadku gleby murszowej i piasku słabo gliniastego. Prawie całkowitą zgodność w ocenie wyników uzyskano natomiast między testem roślinnym i metodą *Aspergillus niger* w modyfikacji Nowosielskiego [7]. Dalsze badania są w toku.

#### LITERATURA

1. Bailey L. F., McHargue J. S.: Effect of boron, copper, manganese, and zinc on the enzyme activity of tomato and alfalfa plants grown in the greenhouse. *Plant Physiol.*, t. 19, nr 1, 1944, s. 105.
2. Bar-Akiva A., Ruth Lavon, Sagiv J.: Ascorbic acid oxidase activity as a measure of the copper nutrition requirement of citrus trees. *Agrochimica*, t. 14, z. 1, 1969, s. 47-54.
3. Brown J. C., Hendricks S. B.: Enzymatic activities as indications of copper and iron deficiencies in plants. *Plant Physiol.*, t. 27, 1952, s. 651-660.
4. Brown J. C., Steinberg R. A.: Iron and copper enzymes in leaf lamina of tobacco when deficient in micronutrients or grown on calcareous and organic soils. *Plant Physiol.*, t. 28, 1953, s. 488-494.
5. Mulder E. G.: Mineral nutrition in relation to the biochemistry and the physiology of potatoes. I. Effect of nitrogen, phosphate, potassium, magnesium, and copper nutrition on the tyrosine content and tyrosinase activity with particular reference to blackening of the tuber. *Plant a. Soil*, t. 2, nr 1, 1949, s. 59-121.
6. Nason A., Olderwurtel H. A., Propst L. M.: Role of micronutrient elements in the metabolism of higher plants. I. Changes in oxidative enzyme constitution of tomato leaves deficient in micronutrient elements. *Arch. Biochem. Biophys.*, t. 38, 1952, s. 1-13.
7. Nowosielski O.: Uproszczona metodyka oznaczania mikroelementów za pomocą *Aspergillus niger*. *Rocz. glebozn.* t. 10, z. 1, 1961, s. 151-163.
8. Ostrowskaja Ł. K.: Fizjologiczeskaja rol miedi i osnovy primienienija miednych udobrenij. *Izd. ASHN, Kijew* 1961.

9. O'Sullivan M., Flynn M. J., Codd F. J.: A biochemical method for diagnosis micronutrient deficiencies in plants. *Ir. J. agric. Res.*, t. 8, nr 1, 1969, s. 111-119.
10. Perumal A., Beattie J. M.: Effect of different levels of copper on the activity of certain enzymes in leaves of apple. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, t. 88, 1966, s. 41-47.
11. Ruszkowska M., Łyszcz S.: Wpływ dawek NPK i Cu na plony oraz na pobieranie miedzi i azotu przez rośliny w warunkach doświadczeń wazonowych. *Pam. puł.*, nr 62, 1975, 229-250.
12. Ruszkowska M., Łyszcz S.: Aktywność oksydaz miedzio-proteidowych jako wskaźnik zaopatrzenia roślin w miedź. *Pam. puł.*, nr 62, 1975, 251-263.
13. Ruszkowska M., Łyszcz S., Sykut S.: Aktywność oksydazy katecholowej w liściach słonecznika przy różnym poziomie zaopatrzenia roślin w miedź. *Polish J. Soil Sci.* t. 8 z. 1, 1975, 67-74.
14. Smith F., G., Stotz E.: A colorimetric method for the determination of phenol oxidase in plant material. *J. Biol. Chem.*, t. 179, nr 2, 1949, s. 865-880.