

植物多酚氧化酶及其活性特征的研究进展

赵伶俐^{1,2}, 范崇辉², 葛红^{1*}, 刘洪涛¹

(1. 中国农业科学院 蔬菜花卉研究所, 北京 100081; 2. 西北农林科技大学, 陕西 杨陵 712100)

摘要:对植物多酚氧化酶类型、细胞和组织中的定位、生理功能、酶活性的影响因素等方面的近年来的研究成果进行了总结。

关键词:多酚氧化酶; 生理功能; 活性

中图分类号:Q746.91 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-7461(2005)03-0156-04

Progress on Polyphenol Oxidase and its Activity Characteristics in Plants

ZHAO Ling-li^{1,2}, FAN Chong-hui², GE Hong¹, LIU Hong-tao¹

(1. Institute of Vegetables and Flowers of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China;

2. Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Recent researches on polyphenol oxidase have been summarized, including its types, orientation in cell and tissue, characteristics of physical functions and the influencing factors of enzyme activities.

Key words: PPO; physiological function; activity

多酚氧化酶(polyphenol oxidase)是一类广泛存在于植物体内的能催化多酚类氧化成醌类的含铜质体金属酶^[1-3]。由于多酚氧化酶的酶促褐变与果蔬加工、茶叶品质、组培成功等密切相关,人们很早就开始对它进行深入细致的研究。本文就多酚氧化酶类型、在植物体内的分布以及多酚氧化酶活性与环境因子间关系的研究进展做一概述。

1 多酚氧化酶的类型

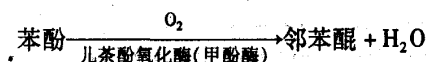
多酚氧化酶在植物界乃至动物界分布广泛,由于其检测方便,是被最早研究的几类酶之一^[2]。自20世纪60年代以来,曾从不同的植物中分离出来,如梨^[4,5]、苹果^[6]、马铃薯^[7,8]、桃^[9,10]、葡萄^[11]、茶叶^[12]、荔枝^[13]、烟草^[14,15]、百合^[16]、小麦^[3]、玫瑰^[17]、甘蔗^[18]等。多酚氧化酶大体上可分为2类^[2,19]:漆酶和儿茶酚氧化酶,习惯上常把儿茶酚氧化酶称为儿茶酚酶、酪氨酸酶、酚氧化酶、多酚氧化酶或甲酚酶,它与漆酶有明显区别。儿茶酚酶不是严格存在于植物体的特定部位,它普遍存在于植物器官和组织;漆酶的催化底物范围很广,可以催化单

酚、三酚、邻和对位二酚以及氨基酸。

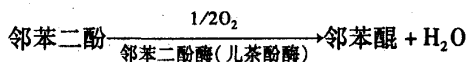
1.1 儿茶酚氧化酶

一种含铜酶,可催化2种不同反应:

(1) 在有氧条件下催化含有一个羟基的酚形成二醌,反应在很大程度上受儿茶酚氧化酶(甲酚酶)活性影响。



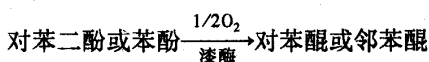
(2) 催化邻苯二酚形成二醌



植物体内儿茶酚氧化酶的含量和活性随植物生长而不断变化,且受到生长条件的影响。另外,CO对其活性有抑制作用而对漆酶却无明显影响。

1.2 漆酶

漆酶可催化如下反应:



此外,漆酶还可催化其他多种基质氧化,如抗坏血酸、对苯一二胺等,但不氧化酪氨酸。

收稿日期:2004-12-15 修回日期:2005-01-27

基金项目:科技部“863”项目“特色花卉离体育种与快繁技术”(2004AA241200)

作者简介:赵伶俐(1982-),女,湖北荆州人,在读硕士,研究方向:园林植物生理生态。

* 通讯作者:葛红。

2 多酚氧化酶在细胞和组织中的定位

多酚氧化酶是由核基因编码,在细胞质中合成,通过一定方式转运至质体内而成为具酶活性的形式^[1,20,21],其在植物体内与类囊体膜结合在一起。对多酚氧化酶的细胞定位研究^[3,20,22-27](包括分级分离研究、细胞化学研究和免疫细胞化学研究等)表明多酚氧化酶是严格的质体酶,有活性的多酚氧化酶广泛分布于完整细胞的质体。如马铃薯块茎淀粉体、顶端分生组织细胞质体、胚轴细胞质体、根细胞质体、表皮细胞质体、胡萝卜培养组织质体、有色体、白色体以及许多种植物的叶绿体。但有些具有质体的细胞组织也可能没有多酚氧化酶存在,例如在C₄植物叶中,只在叶肉组织中检测到多酚氧化酶活性,维管束鞘细胞尽管含有丰富的叶绿体,却检测不到多酚氧化酶活性^[1]。另外在保卫细胞^[28]、棉花下胚轴的一些细胞层^[29]也检测不到PPO的活性。因此,多酚氧化酶存在于含有质体的植物组织,而含有质体的植物组织不一定都存在多酚氧化酶。

就其组织定位来讲,多酚氧化酶广泛存在于植物的各器官和组织,如花器官、分生组织、叶片、块茎、根中,一般在幼嫩部分含量较多,而在成熟部分较少^[30]。Hunt^[31]等报道,马铃薯叶片中PPO mRNA含量不同,只在幼嫩叶片中能检测到,免疫检测发现,从顶芽到第11个叶芽中的PPO分布是恒定的。Dry^[32]等报道,葡萄幼嫩的正在生长的浆果、叶片、根中有高水平的PPO基因表达,而在成熟组织中却较少。

3 多酚氧化酶的生理功能

3.1 多酚氧化酶在酚类代谢中的作用

多酚氧化酶在有氧的条件下催化酚形成醌,从而引起褐化。但是,植物体内大多数多酚氧化酶的活性都是潜在的。这是因为正常组织内细胞中的酚类物质和多酚氧化酶呈区域性分布。鞠志国等^[33,34]用酶法分离分别测定了莱阳梨原生质体和液泡中的酚类物质含量以及多酚氧化酶的活性,发现液泡是贮存酚类物质的场所且其中不含多酚氧化酶,这为Mayer和Harel^[2]关于酚类和多酚氧化酶区域性分布的论点提供了证据。因此,它在酚类物质代谢中的作用主要体现在含有质体和液泡混合液的环境中,具体来说就是衰老和受伤的情况。多酚氧化酶在解释由于受伤而出现醌类物质的快速产生,从而进一步引起褐变死亡具有很明显的生理意义。

这种现象在组织培养上很常见。

3.2 在光合过程中的作用

在研究光合作用的过程中,Vaughn等人^[27]提出多酚氧化酶中的铜离子可在不同价态间氧化还原传递电子,对于光合和呼吸作用的电子传递有一定的协同作用。但要确认其参与了分子氧光还原过程中的默勒反应尚需进一步深入研究。

3.3 与植物抗病性的关系

路兴波等^[35]在小麦抗感纹枯病品种酶活性比较研究中指出,多酚氧化酶参与了木质素前体的聚合作用,与植物抗病性密切相关。病原菌侵染能诱导植物体内多酚氧化酶活性升高,促进酚类化合物的大量积累并形成醌,醌的次生反应所产生黑色素的痂可阻止感染的扩散;而酚类化合物是细胞形成木质素的前提,可促进细胞壁和组织的木质化,以抵抗病原菌侵染;还有实验证明O-醌类物质具有抑制细菌繁殖的作用^[2]。

3.4 其他生理功能

多酚氧化酶能进行去甲基化反应,这对于木质素降解是相当重要的。在层孔属的真菌中,PPO不仅能够降解木质,而且能够聚合木质的氧化产物^[36],在马齿苋属植物和红色甜菜植物中,酪氨酸酶参与 β -花青素的生物合成^[37];黄色金鱼草中的查尔酮专一性PPO则参与橙酮的合成^[38];PPO还与植物的生长发育过程(如根的形成)以及乙烯的形成有一定联系^[1];PPO还可促进伤口的愈合^[39]。

4 影响多酚氧化酶的因素

虽然多酚氧化酶的多重性具同一遗传基础,但也受额外因子的影响;不同来源的多酚氧化酶由于其理化性质存在很大差异,所以在不同植物体内表现不同的活性特征,且其表现最适活性的环境因子要求不一致,对同一种物理或化学处理的敏感性反应也不相同。

4.1 酸碱度与多酚氧化酶活性

酶对环境酸碱度的敏感是酶的特点之一,每种酶只在一定的pH限度范围内才表现活性^[40]。pH是影响PPO活性的重要因素,不同植物或同属不同种植物体内PPO活性的最适pH均不相同,其变化幅度范围很大。王清^[8]在马铃薯PPO活性影响因素的研究中认为,pH对马铃薯PPO活性具明显影响,块茎芽以及愈伤组织PPO活性均在5.0~5.5之间最高,而试管苗在培养基pH为8时PPO活性最高。李秀锦^[10]认为桃在成熟过程的多数时期

PPO 最适 pH 为 6。韩富根等^[15]在烟草叶片多酚氧化酶的提取及其特征研究中指出, pH 为 6 时, 多酚氧化酶活性最高; 在偏碱条件下, 酶的活性下降快。于新^[41]关于草菇多酚氧化酶及过氧化物酶特性的研究表明, 草菇多酚氧化酶表现最适活性的 pH 为 6.0~6.8。Wu H. C^[42]的研究表明竹的 PPO 活性在 pH 为 10 时达到最高。可见, 不同植物 PPO 活性最适 pH 差异很大。

4.2 温度与多酚氧化酶活性

温度对 PPO 活性的影响表现在两方面, 一方面随温度升高, 酶活性升高; 另一方面随温度升高, 活性酶的比例大为降低, 因而酶活性降低。因此, 温度对酶活性的影响是这两种作用综合的表现。PPO 活性在不同植物中表现的最适温度也不一致, 其变化的幅度因植物体材料的不同呈现很大差异。雷东锋^[14]研究了烟草中 PPO 在 35℃、40℃、45℃、50℃、55℃、60℃、65℃、70℃ 和 75℃ 等烘烤温度条件下的热敏感性, 发现此酶的最适反应温度为 35℃, 并且随着温度的升高, 活性逐渐下降, 在每一温度下保持 5 min, 活性趋于稳定。黄浩^[43]在红豆杉细胞多酚氧化酶性质的研究中指出, 在 25℃ 培养条件下 PPO 有较高的活性, 其酶促褐变反应很容易进行。

4.3 光照强度与多酚氧化酶活性

多酚氧化酶属于植物体内的末端氧化酶系统, 光照明显促进了此酶的活性。黄健^[44]研究不同光照条件下海带体内酚类化合物含量的结果表明, 在 0~1 200 Lx 光照强度间, PPO 随光照强度增加而呈上升趋势。杨博等^[17]在对玫瑰组织培养的研究中, 采用不同的遮光处理(对照、单层膜、双层膜), 其结果也同样证明在一定的光照强度变化幅度内, PPO 活性和接种后的褐变率均随光强增加而上升。在茶叶研究中也与有与此相一致的报道^[12]。

4.4 抑制剂与多酚氧化酶活性

抑制剂对多酚氧化酶的作用机理是作用于产物的还原或抑制酶的活性。PPO 的辅基为铜离子, 从理论上说, 应该有 2 种类型的抑制剂: (1) 与铜离子作用从而抑制酶活性的物质; (2) 影响底物与酶作用部位结合的物质。吴明江^[45]在对苹果梨的研究中发现抗坏血酸(Vc)、亚硫酸氢钠(NaHSO_3)、氯化钠(NaCl)、柠檬酸对 PPO 的酶促褐变有影响, 其体内实验亦证明各种抑制剂均抑制 PPO 的活性, 并且以多种抑制剂综合使用的效果最佳。詹嘉红等^[46]在橄榄果实的研究中也发现一定浓度的抗坏血酸、L-半胱氨酸、亚硫酸钠、偏重亚硫酸钾对 PPO 活性

有明显的抑制作用。黄浩^[43]在抑制剂对红豆杉多酚氧化酶活性影响的研究中也发现氯化钠(NaCl)、苯甲酸、二乙基二硫代氨基甲酸钠强烈抑制多酚氧化酶的活性。

4.5 植物年龄与多酚氧化酶活性

多酚氧化酶在植株幼嫩阶段及生长旺盛期活性最高^[2]。晏本菊、李焕参^[5]在梨外植体褐变与多酚氧化酶及酚类物质关系的研究中指出, 多酚氧化酶的酶促褐变作用在植株萌芽阶段和生长旺盛期多酚氧化酶和总酚含量均高的情况下表现尤为明显。雷东锋等^[14]在烟草中多酚氧化酶生理生化特征及活性控制的研究也得出了与此较一致的结论, 在苗期与生理成熟期多酚氧化酶活性最高。

多酚氧化酶与植物组织培养的酶促褐变以及果蔬品质密切相关。虽有研究表明多酚氧化酶是促使褐变的主要原因, 但其生理功能及作用机制, 还需进一步研究。

参考文献:

- [1] 黄明, 彭世清. 植物多酚氧化酶研究进展[J]. 广西师范大学学报(自然科学版), 1998, 16(2): 65-70.
- [2] Alfred M M, Eitan H. Polyphenol oxidase in plants[J]. Phytochemistry, 1979, 18: 193-215.
- [3] 胡瑞波, 田纪春. 小麦多酚氧化酶研究进展[J]. 麦类作物学报, 2004, 24(1): 81-85.
- [4] 李焕秀, 王乔春, 李春秀. 梨芽和茎尖多酚氧化酶活性和总酚含量的初步研究[J]. 四川农业大学学报, 1994, 12(2): 218-222.
- [5] 晏本菊, 李焕秀. 梨外植体褐变与多酚氧化酶及酚类物质的关系[J]. 四川农业大学学报, 1998, 16(3): 310-313.
- [6] 仲飞. 红星苹果多酚氧化酶某些特征及其抑制剂的研究[J]. 园艺学报, 1998, 25(2): 184-186.
- [7] 姚晓敏, 赵金香, 储刘明. 马铃薯褐变的控制[J]. 上海农学院学报, 2000, 18(1): 40-46.
- [8] 王清, 王蒂. 温度、pH 对马铃薯多酚氧化酶活性的影响[J]. 中国马铃薯, 2003, 17(3): 157-161.
- [9] 赛世娟, 关军锋. 采后桃果实衰老褐变与活性氧和酚类物质代谢的关系[J]. 河北农业科学, 2003, 7(3): 25-29.
- [10] 李秀锦. 不同成熟期桃多酚氧化酶的研究[J]. 农业工程学报, 1999, 15(2): 233-234.
- [11] 刘金豹, 杜中军, 翟衡. 葡萄浆果中的主要多酚化合物及影响因素[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2003, (2): 22-26.
- [12] 朱红. 茶树鲜叶中多酚含量变化的研究[J]. 四川农业大学学报, 1998, 16(3): 345-348.
- [13] 吴振先, 苏美霞, 陈维信, 等. 贮藏荔枝果皮多酚氧化酶及过氧化物酶与褐变的研究[J]. 华南农业大学学报, 1998, (1): 12-15.
- [14] 雷东锋, 蒋大宗, 王一理. 烟草中多酚氧化酶的生理生化特征及其活性控制的研究[J]. 西安交通大学学报, 2003, 37(12):

- 1316-1320.
- [15] 韩富根, 焦桂珍, 刘学芝, 等. 烟草叶片多酚氧化酶的提取及其特性研究[J]. 河南农业大学学报, 1995, 29(1): 98-102.
- [16] 蒋益虹. 百合褐变与多酚氧化酶和过氧化物酶活性关系的研究[J]. 浙江大学学报, 2003, 29(5): 518-522.
- [17] 杨博, 韩振海, 张永, 等. 不同光照强度对玫瑰组织培养中初代培养物褐化的影响[J]. 园艺园林科学, 2003, 19(6): 194-196.
- [18] 蒋自立. 甘蔗体内多酚氧化酶活性和酚类物质含量对其愈伤组织生长的影响[J]. 遵义师范高等专科学校学报, 1999, 1(2): 88-89.
- [19] 姚洪军, 罗晓芳, 田砚亭. 植物组织培养外植体褐变的研究进展[J]. 北京林业大学学报, 1999, 3: 1-12.
- [20] Vaughn K C. Tissue localization of polyphenol oxidase in *Sorghum* [J]. Protoplasma, 1981, 108: 319-327.
- [21] Vaughn K C. Function of polyphenol oxidase in higher plants [J]. Physiol. Plant, 1984, 60: 106-112.
- [22] Mueller W C. Ultrastructural localization of polyphenol oxidase and peroxidase in roots and hypocotyls of cotton seedlings [J]. Can. J. Bot, 1978, 56: 1579-1587.
- [23] Vaughn K C. Tentoxin effects on sorghum; the role of polyphenol oxidase [J]. Protoplasma, 1982, 110: 48-53.
- [24] Kojima K. Tissue distribution of chlorogenic acid and of enzymes involved in its metabolism in leaves of sorghum bicolor [J]. Plant Physiol. 1982, 70: 922-925.
- [25] Olah A F. Ultrastructural localization of oxidative and peroxidative activities in carrot suspension cell culture [J]. Protoplasma, 1981, 106: 231-248.
- [26] Vaughn K C. Tentoxin - induced loss of plastidic polyphenol oxidase [J]. Physiol Plant 1981, 53: 421-428.
- [27] Vaughn K C. Polyphenol oxidase; the chloroplast oxidase with no established function [J]. Physiol. Plant, 1988, 72: 659-665.
- [28] Bhatia D S, Malik C P. Histochemical studies in stomatal apparatus of *Phaseolus mungo* Linn, *Lathyrus sativus* Linn and *Opuntia elatior* Miq [J]. Folia Histochem. Cytochem, 1977, 15: 315-332.
- [29] Mueller W C, Bechman C H. Ultrastructural localization of polyphenol oxidase and peroxidase in roots and hypocotyls of cotton seedlings [J]. Can. J. Bot, 1978, 56: 1579-1587.
- [30] 贺立红, 宾金华. 高等植物中的多酚氧化酶[J]. 植物生理学通讯, 2001, 37(4): 340-345.
- [31] Hunt M D, Eannetta N T, Yu H. cDNA cloning and expression of potato polyphenol oxidase [J]. Plant. Mol. Biol., 1993, 21: 59-68.
- [32] Dry I B, Robinson Sally M - Newman S P, Eannetta N T, et al. Molecular cloning and characterization of grape berry polyphenol oxidase gene [J]. Plant Mol. Biol., 1994, 26: 495-502.
- [33] 鞠志国, 朱广廉, 曹宗巽. 莱阳红梨果实褐变与 PPO 及酚类物质区域化分布的关系 [J]. 植物生理学报, 1988, 14(4): 256-261.
- [34] 鞠志国. PPO 及其底物对梨组织褐变的影响 [J]. 莱阳农学院学报, 1987, 4(2): 42-47.
- [35] 路兴波, 吴洵耻, 周凯南. 小麦抗感纹枯病品种酶活性比较研究 [A]. 植物保护 21 世纪展望暨第三届全国青年植物保护科技工作者学术研讨会论文集 [C]. 北京: 科学技术出版社, 1998.
- [36] 谢春艳, 宾金华, 陈兆平, 等. 多酚氧化酶及其生理功能 [J]. 生物学通报, 1999, 34(6): 11-13.
- [37] 雷东锋, 冯怡, 蒋大宗. 植物中多酚氧化酶的特征 [J]. 自然科学进展, 2004, 14(6): 606-614.
- [38] Strack D. Bifunctional polyphenol oxidase: Novel functions in plant pigment biosynthesis [J]. Angewandte Chemie-International Edition, 2001, 40(20): 3791.
- [39] Kowalski S P, Eannetta N T, Hirzel AT, et al. Purification and characterization of polyphenol oxidase from glandular trichomes of *Solanum berthaultii* [J]. Plant Physiol, 1992, 100: 677-684.
- [40] 董愚得, 潘瑞炽. 植物生理学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [41] 于新, 黄小丹, 冯彤, 等. 草菇多酚氧化酶及过氧化物酶特性的研究 [J]. 仲恺农业技术学院学报, 1998, 11(3): 27-33.
- [42] Wu H C, Chu H L, Kuo J M, et al. The biochemical characteristics of polyphenol oxidase from browning tissue - cultured bamboo (*Dendrocalamus latiflorus*) [J]. Food Sci. Agricul. Chem, 1999, 1(4): 244-249.
- [43] 黄浩. 红豆杉细胞多酚氧化酶的性质研究初探 [J]. 江西科学, 1999, 17(3): 158-162.
- [44] 黄健, 唐学玺, 短德麟, 等. 不同光照条件下海带体内各种化合物的含量及光合作用和呼吸作用的变化 [J]. 海洋科学, 2002, 26(4): 55-58.
- [45] 吴明江, 张忠恒, 池春玉, 等. 几种化学物质对苹果梨酶促褐变反应的影响及机理研究 [J]. 黑龙江农垦师专学报, 1994(1): 77-80.
- [46] 詹嘉红, 蓝宗辉, 曾碧英. 橄榄果实多酚氧化酶特性研究 [J]. 广州食品工业科技, 2003, 19(4): 16-17.