©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Phyton (Austria)	Vol. 19	Fasc. 1—2	83—96	2. 11. 1978

Aktivität und multiple Formen der Peroxydase in unverbleiten und verbleiten Pflanzen von *Zea mays* und *Medicago sativa* [1])

Von

Rudolf MAIER*)

Mit 6 Figuren

Eingelangt am 22. Dezember 1977

Activity and Multiple Forms of Peroxidase in *Zea mays* and *Medicago sativa* Treated and Non-treated with Lead

Summary

The influence of lead on the peroxidase was studied in young plants of *Zea mays* and *Medicago sativa* grown in solutions of $Pb(NO_3)_2$. The content of nitrate in the control- and the leadsolutions was equalized by $NaNO_3$.

In the patterns of the multiple forms in roots and leaves of *Zea* and *Medicago* qualitatively no, respectively negligible change between control and lead-treated plants takes place. The temperature during the lead-treatment does not effect the numbers and the positions of bands either.

The bands' activity of peroxidase in lead-treated plants differs clearly from untreated plants, resulting in a different activity of the whole enzyme. In the roots and in the leaves of *Zea* as well as in the leaves of *Medicago* the relative activity of the peroxidase in lead-treated plants is raised. In the roots of *Medicago* the relative activity decreased slightly.

Zusammenfassung

Jungpflanzen von *Zea mays* und *Medicago sativa* wurden in $Pb(NO_3)_2$-Lösungen (200 ppm und 500 ppm Pb) eingestellt und die Auswirkungen auf die Peroxydase untersucht. Mit $NaNO_3$ wurde der Nitratgehalt in Kontroll- und Bleilösungen ausgeglichen.

Die multiplen Formen der Peroxydase werden in Wurzeln und Blättern

[1]) Publ. -Nr. 9 der MAB-Projektgruppe Urbanökologie.

*) Anschrift des Verfassers: Dr. R. MAIER, Institut für Pflanzenphysiologie, Universität Wien, Dr.-Karl-Lueger-Ring 1, A-1010 Wien, Austria.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

von *Zea* und *Medicago* durch die Verbleiung im Vergleich zur Kontrolle qualitativ kaum bzw. nicht verändert. Auch die Temperatur während der Zeit des Bleistresses hat keinen Einfluß auf die Zahl und die Position der Banden.

In der Intensität der Peroxydasebanden treten jedoch deutliche Abweichungen zwischen verbleiten und unverbleiten Pflanzen auf, sodaß daraus eine unterschiedliche Gesamtaktivität resultiert. In den Wurzeln und in den Blättern von *Zea*, aber auch in den Blättern von *Medicago* ist die relative Aktivität der Peroxydase als Folge der Verbleiung erhöht. In den Wurzeln von *Medicago* nimmt die relative Aktivität geringfügig ab.

1. Einleitung

Die Peroxydase, POD (Donor: hydrogen-peroxide oxidoreductase, E. C. 1. 11. 1. 7.) ist ein Fe (III)-hältiges Hämproteid. Ihre Funktion in der Zelle ist unter anderem die Zerlegung von H_2O_2. Im Hinblick auf den Wasserstoffakzeptor ist das Enzym ja relativ spezifisch (H_2O_2, ferner Acetyl-Methyl- und Äthylhydroperoxid). Dagegen werden als Wasserstoffdonatoren eine Anzahl von Substraten umgesetzt (Übersicht in Bergmeyer 1970). Aus dieser Unspezifität gegenüber den Wasserstoffdonatoren erklärt sich auch die Vielfalt der Beteiligung dieses Enzyms an Stoffwechselprozessen in der Zelle. Neben der Wasserstoffperoxidzerlegung spielt die POD u. a. als Katalysator der Indol-3-Essigsäure in der pflanzlichen Entwicklung und Differenzierung (z. B. Meudt & Stecher 1972, Walter & Gordon 1975), im besonderen im Zellwandaufbau (Siegel 1955, Curtis & Barnett 1974, Mäder *et al.* 1975, Parish 1975), damit im Zusammenhang bei mechanischen Schädigungen und Infektionskrankheiten der Pflanzen (u. a. Birecka *et al.* 1975) und allgemein im Stoffwechsel der Aromate (Stafford 1974) eine Rolle.

In der Schadstofforschung ist die POD eines der am meisten untersuchten Enzyme (z. B. Keller und Schwager 1971, Zuber *et al.* 1973, Keller 1974, Flückiger 1975, Horsman & Wellburn 1975, Ernst 1976, Wellburn *et al* 1976). Die bisherigen Arbeiten konzentrierten sich auf die POD in Blättern schadstoffbelasteter Pflanzen, es fehlen jedoch vergleichende Aspekte, wie sie sich z. B. zwischen der Enzymaktivität in Blättern und jener im Wurzelsystem ergeben. Gerade daraus, wie die vorliegenden Untersuchungen mit dem Schwermetall Blei zeigen sollen, kommt man zu einer besseren Vorstellung der Schwermetallwirkung in Pflanzen — unter der Voraussetzung, daß zusätzlich zu Aktivitätsmessungen die multiplen Subformen eines Enzyms berücksichtigt werden.

2. Material und Methoden

Anzucht und Behandlung der Versuchspflanzen: Es wurden Karyopsen von *Zea mays* (Sorte: LG 15) in Filterpapierrollen 8 (1. Serie) bzw. 7 Tage

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

(2. Serie) in einer SHIVE-Nährlösung angezogen (1. Serie: Temperatur: 25±1° C, relative Luftfeuchtigkeit: ±80%, Licht: 12h, Osram L, cool white, 65 W und Krypton-Lampen als zusätzliche Infrarotstrahler, Gesamtenergie: 47 Wm^{-2}; 2. Serie: Temperatur: 20±1° C, rel. Luftfeuchtigkeit: 80±5%, Licht: 12h, Philips HPI 400 W, 130 Wm^{-2}). Nach Erneuerung des Filterpapieres und gründlicher Reinigung der Wurzeln in aqua dest., wurden die Pflanzen in $Pb(NO_3)_2$-Lösungen (200 und 500 ppm Pb) eingestellt (1. Serie: 5 und 19d, Temperatur: 20±1° C, übrige Daten wie Anzucht; Serie 2: 19d, 17±1° C bzw. 32±1° C, übrige Daten wie Anzucht).

Medicago sativa (Sorte: Elga)-Samen wurden auf geglühtem Quarzsand in einer HOAGLAND-Nährlösung 2,5 Monate kultiviert (Temperatur: 22±1° C, rel. Luftfeuchtigkeit: 80±5°%, Licht: 12h, Philips HPI 400 W, 130 Wm^{-2}). Schwermetallbehandlung: Nach Erneuerung des Quarzsandes und gründlicher Reinigung der Wurzeln wurde $Pb(NO_3)_2$ (500 ppm Pb) zugesetzt. Die Behandlungsdauer betrug 29 Tage (Temperatur: 17±1° C bzw. 32±1° C, übrige Daten wie Anzucht).

Die Kontrollpflanzen sowohl von *Zea* wie auch von *Medicago* wurden bei gleicher methodischer Behandlung in entsprechend konzentrierte $NaNO_3$-Lösungen eingestellt, sodaß der Nitratgehalt aller Ansätze gleich hoch war.

Enzymatische Analyse: Aus einer Mischprobe jedes Ansatzes wurde in einem Puffergemisch (vgl. MAIER 1977a) ein Enzymrohextrakt hergestellt. Da sich im Wassergehalt zwischen Kontrolle und bleibehandelten Pflanzen keine wesentlichen Unterschiede ergeben haben, die das Untersuchungsergebnis maßgeblich beeinflußt hätten (MAIER 1977a), wurde als Bezugsgewicht das Frischgewicht gewählt. Die Reinigung der Wurzel, die ja in die Bleilösung eintauchten erfolgte durch Waschen im Fließwasser (1h) Einstellen in Titriplex II (MERCK) und neuerlichem Spülen in aqua dest.

Die elektrophoretische Trennung (Flachgelelektrophorese, vgl. FANKEL 1973, MAIER 1977a) von 0,1 ml Rohextrakt wurde bei 300 V durchgeführt. Die Darstellung der POD-aktiven Zonen im Gel erfolgte modifiziert nach der Methode von SCHRAUWEN (zit. n. MAURER 1971, vgl. FANKEL 1973) mit Benzidin (MERCK)-Guajakol (Loba Chemie) und H_2O_2. Die Flächen der densitometrisch (Vitatron TLD 100) ausgewerteten Zymogramme wurden als Maß der relativen Aktivität gewertet. Durch wiederholte Trennungen wurde die Reproduzierbarkeit der Enzymmuster sichergestellt.

3. Ergebnisse

3.1. Multiple Formen der POD und relative Aktivität in unverbleitem Mais

Wurzeln und Blätter von *Zea mays* unterscheiden sich im Muster ihrer multiplen POD-Formen (Fig. 1—4). Es ist ebenso bekannt (z. B. CHEN *et al.*, 1970, Zusammenfassung bei SCANDALIOS 1974) und hier neuerlich bestätigt, daß das Alter der Pflanzen Veränderungen im multiplen Formen-

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

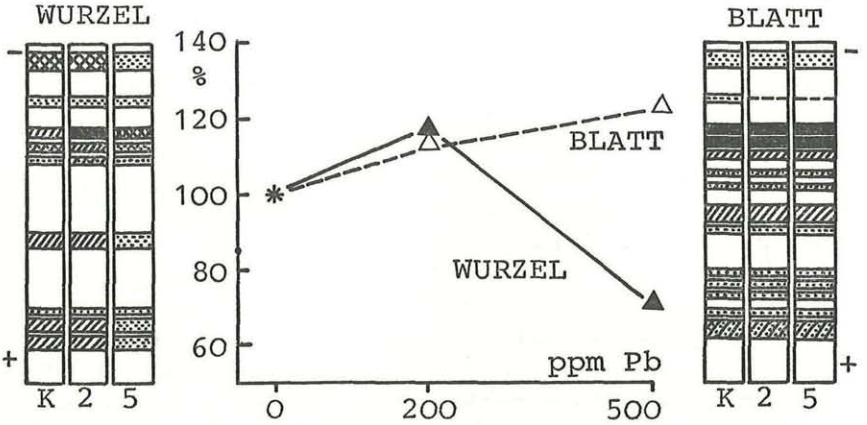

Fig. 1. *Zea mays:* Relative Aktivität und multiple Formen der POD in Wurzeln und Blättern 5 Tage lang verbleiter Pflanzen (Serie 1). Rel. Aktivität in %: Wurzel: ▲—▲, Blatt: △— — —△. Bezugswerte: Aktivität der unverbleiten Wurzel bzw. des unverbleiten Blattes = 100% (*). Zymogramme: +, —: Anode, Kathode. K: Kontrolle, 2: 200 ppm Pb, 5: 500 ppm Pb. Geschätzte Bandenintensität: schwarz: sehr stark; gekreuzt: stark; liniert: mittel, liniert-punktiert: schwach, punktiert: sehr schwach, strichlierte Linie: Bande nicht gesichert

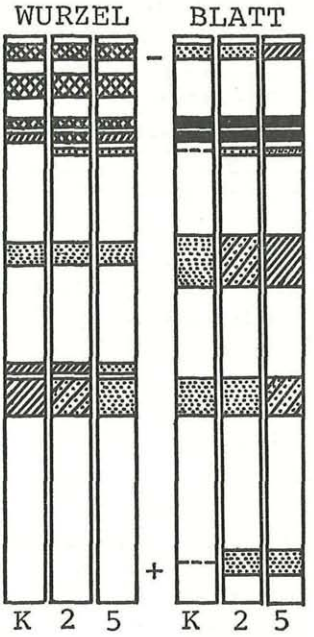

Fig. 2. *Zea mays:* Multiple Formen der POD in Wurzeln und Blättern nach 19-tägiger Verbleiung (Serie 1). Legende zu den Zymogrammen siehe Fig. 1.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

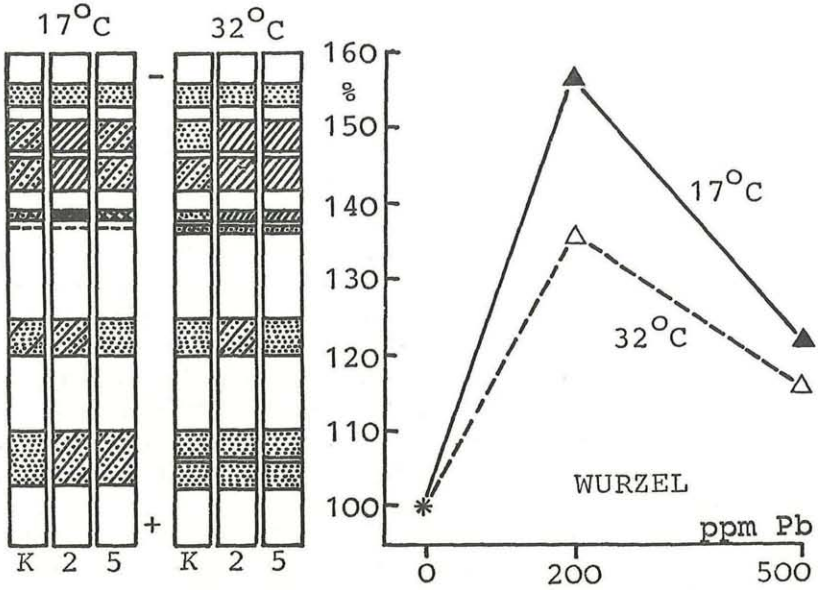

Fig. 3. *Zea mays:* Relative Aktivität und multiple Formen der POD in Wurzeln unverbleiter und verbleiter Pflanzen bei einer Anzuchttemperatur von 17° C bzw. 32° C (Serie 2). Rechts: rel. Aktivität in %: 17° C: ▲——▲, 32° C: △– – –△. Bezugswerte: Aktivität der unverbleiten Wurzel bei 17° C bzw. 32° C = 100% (*). Legende zu den Zymogrammen siehe Fig. 1

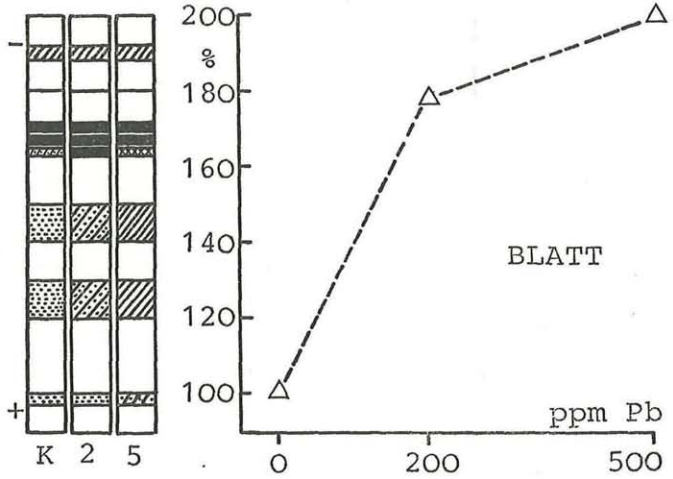

Fig. 4. *Zea mays:* Relative Aktivität und multiple Formen der POD in den Blättern unverbleiter und verbleiter Pflanzen bei 32° C (Serie 2). Legende zu den Zymogrammen siehe Fig. 1

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

muster mitbestimmt (Fig. 1: POD-Muster von 13 Tage alten, Fig. 2: desgl. von 27 Tage alten Maispflanzen). Dagegen werden die multiplen Formen der POD durch eine Anzucht bei verschiedenen Temperaturen (17° C bzw. 32° C), was Lage und Zahl der Banden anbelangt, in diesen Kurzzeitversuchen nur geringfügig verändert (Fig. 3).

3.2. Multiple Formen der POD und relative Aktivität in verbleitem Mais

Noch unauffälliger als die Temperatur äußert sich eine Verbleiung der Pflanzen in der qualitativen (Bandenzahl und -position) Zusammensetzung der multiplen POD-Formen im Vergleich zu den Kontrollen (Fig. 1—4). Im übrigen wurden Rohextrakte von *Zea* mit Blei versetzt und diese elektrophoretisch getrennt. Selbst bei der höchsten gebotenen Bleikonzentration (500 ppm) kam es zu keiner qualitativen Änderung des POD-Musters.

Klar erkennbare Unterschiede zwischen verbleiten und unverbleiten Individuen treten jedoch in der Intensität der Banden auf, und dies drückt sich schließlich in der Aktivität des Enzyms aus.

Wurzel: Eine 5tägige Verbleiung von *Zea*-Wurzeln hat bei Anzucht der Pflanzen in 200 ppm Pb eine Erhöhung der POD-Aktivität, bei 500 ppm Pb dagegen eine Absenkung gegenüber der Aktivität in unverbleiten Wurzeln zur Folge (Fig. 1).

Zea mays-Pflanzen, die 19 Tage lang unter Bleieinfluß standen, haben ebenfalls einer erhöhte relative POD-Aktivität in den Wurzeln, wenn sie mit 200 ppm Pb behandelt wurden. Die relative Aktivität der POD ist in 500 ppm verbleiten Pflanzen jedoch niedriger als in 200 ppm verbleiten, liegt aber noch immer höher als der Kontrollwert. Dies gilt für beide Behandlungstemperaturen (17° C und 32° C), wenngleich die Aktivierung bei 17° C stärker ist (Fig. 3).

Wie weiters aus Fig. 3 zu ersehen ist, tritt trotz Unterschieden in der Aktivität keine Zahl- und Lageveränderung der Banden im Zymogramm verbleiter und unverbleiter Wurzeln auf. Auch wenn Blei bei einer Temperatur von 17° C oder von 32° C einwirkt, hat dies gegenüber der Kontrolle keine qualitative Veränderung des POD-Musters zur Folge.

Blatt: Blei führt nach 5 Tagen zu einer leichten Zunahme der relativen POD-Aktivität in den Blättern (Fig. 1). Qualitativ bleibt das elektrophoretische Muster der POD nach 5-, wie auch nach 19tägiger Bleibehandlung unverändert (Fig. 1, 2 und 4). Nach 19tägiger Verbleiung ist die Aktivitätssteigerung durch die Intensitätszunahme der Banden bereits visuell erkennbar, wie dies durch die verschiedenen Signaturen in Fig. 2 (Serie 1) und Fig. 4 (Serie 2) zum Ausdruck gebracht werden soll.

In Fig. 4 ist zusätzlich die relative POD-Aktivität bei 32° C in *Zea* Blättern nach 19tägiger Verbleiung dargestellt. Eine stark erhöhte relative Aktivität bei 200 ppm Pb und ein weiterer Anstieg bei 500 ppm Pb beweisen die bereits optisch erkennbare Steigerung der Intensität der substraktiven

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Zonen im Zymogramm der Maisblätter (Fig. 2 und 4). Diese Aktivitätserhöhung in den Blättern verbleiter Pflanzen ergibt sich also nicht aus einer qualitativen Veränderung des Zymogramms, sondern aus quantitativen Unterschieden, wobei nicht alle, zumindest aber einige Banden intensitätsstärker hervortreten.

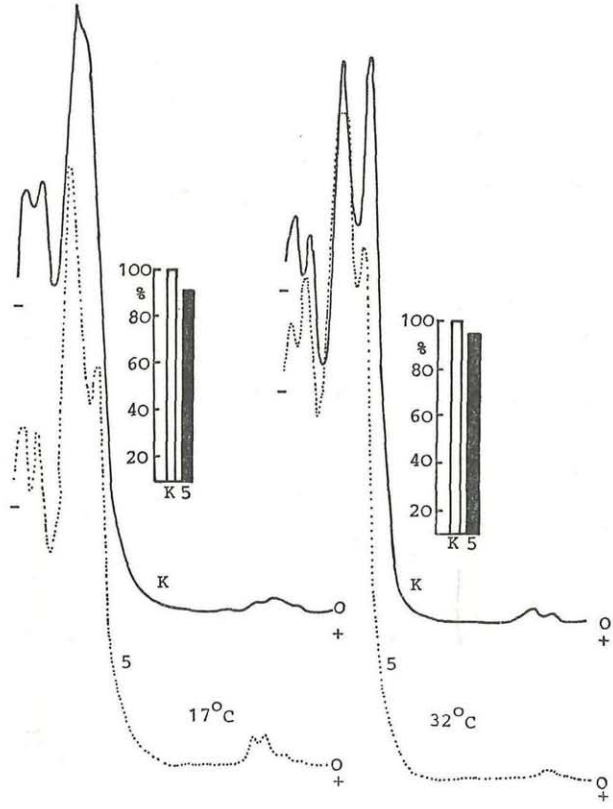

Fig. 5. *Medicago sativa:* Relative Aktivität und multiple Formen (Densitogramme) der POD in Wurzeln unverbleiter und verbleiter Pflanzen bei verschiedenen Anzuchttemperaturen (17° C bzw. 32° C). Blöcke: rel. Aktivität in %. Densitogramme: +, −: Anode, Kathode, O: Nullinie; A, B: siehe Text; K: Kontrolle, 5: 500 ppm Pb

3.3. Relative Aktivität und multiple Formen der POD in verbleiter Luzerne

Wurzel: Die relative POD-Aktivität in den Wurzeln der verbleiten *Medicago*-Pflanzen ist sowohl bei 17° C wie auch bei 32° C geringfügig gesenkt, keinesfalls jedoch erhöht (Fig. 5). Ähnlich wie bei *Zea* ist auch bei *Medicago* Zahl und Lage der multiplen Formen nicht beeinflußt. Auffallend

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

ist jedoch, wie aus dem Densitogramm in Fig. 5 hervorgeht, daß es sich nicht um eine gleichmäßige Intensitätsverstärkung aller Banden zwischen Kontrolle und Bleistufe handelt. Bei 32° C z. B. ist die Doppelbande A/B in den Wurzeln der Kontrolle intensitätsgleich, in den verbleiten Wurzeln ist die Bande A stärker als die entsprechende Bande im Zymogramm der Kontrollpflanzen. Bande B verliert im Vergleich zu A an Intensität.

Blatt: In den Blättern der Luzerne ist die relative Aktivität der POD in den Pflanzen der Bleiserie, wie bei *Zea*, erhöht. Die Temperatur während

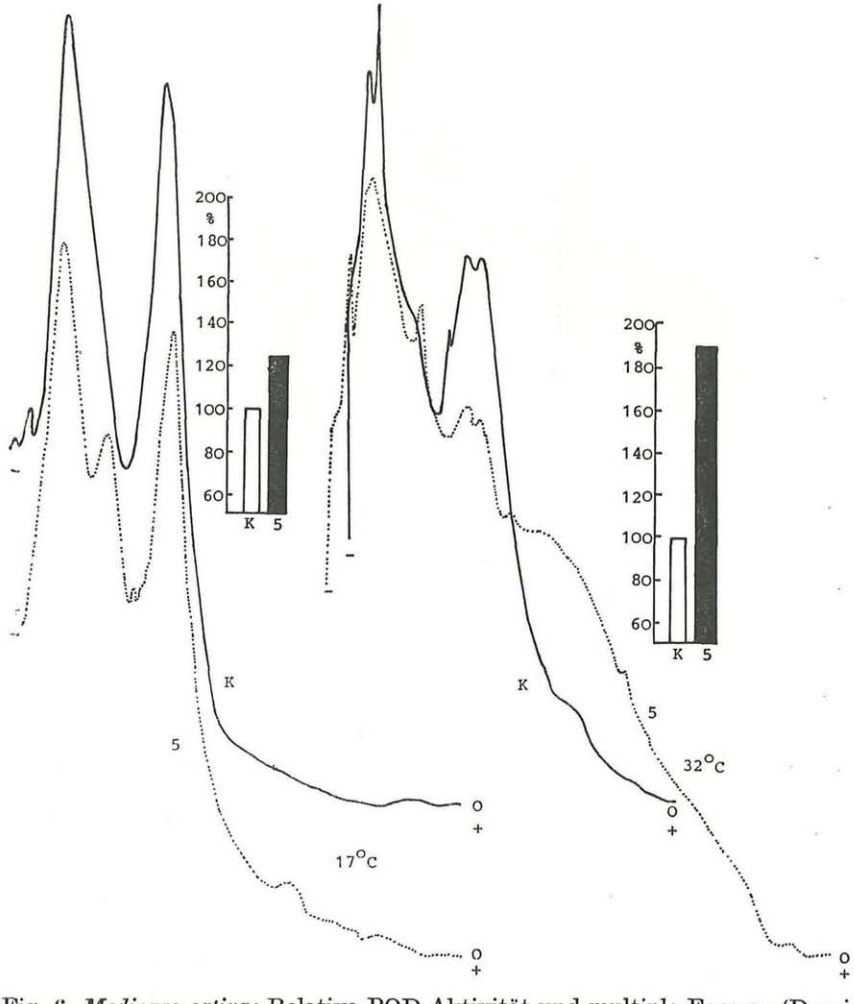

Fig. 6. *Medicago sativa:* Relative POD-Aktivität und multiple Formen (Densitogramme) in Blättern unverbleiter und verbleiter Pflanzen bei 17° C (links und 32° C (rechts). Legende siehe Fig. 5

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

der Verbleiung drückt sich im Grad der Aktivitätsverstärkung aus. Bei 32° C ist die Erhöhung der POD-Aktivität stärker als bei 17° C (Fig. 6).

Eine Veränderung der POD-Aktivität durch das Nitrat, bei Verwendung von $Pb(NO_3)_2$ während der Aufzucht, wie FLÜCKIGER 1975 nachweisen konnte, kann hier außer acht gelassen werden, da in allen Versuchsserien, sowohl bei *Zea* wie bei *Medicago*, der Nitratgehalt der Behandlungslösungen in den unverbleiten und verbleiten Ansätzen gleich hoch war.

4. Diskussion

Von Schwermetallen ist bekannt, daß sie mit Proteinen stabile Komplexe bilden, folglich auch Enzyme inaktivieren. Der Einbau von Enzymen in die geordneten Strukturen in einem Pflanzenkörper vermindert den Inaktivierungsprozeß, wenn die Pflanze selbst schwermetallhaltigen Substraten ausgesetzt ist. Im Applikationsorgan wird das Blei zum Großteil festgelegt (Lit. dazu bei MAIER 1978). In der Wurzel sind vor allem die Zellwände bevorzugte Speicherorte von Blei, während im Blatt die Schwermetalle, zumindest für Cu und Zn nachgewiesen, zum Großteil gelöst in der Vakuole vorliegen (ERNST 1972).

Im großen und ganzen ändert sich in den Wurzeln und in den Blättern von *Zea mays* wie von *Medicago sativa* die qualitative Zusammensetzung des POD-Zymogramms nicht, wenn Blei der Wurzel geboten wurde. Im multiplen Formenmuster ist die POD im Vergleich zur Esterase (MAIER 1977a) in ihrer Reaktion auf Blei demnach weniger variabel. Dies dürfte wohl darauf zurückzuführen sein, daß die POD ein Enzym ist, das eine verhältnismäßig hohe *in vitro*-Resistenz gegen Blei hat (ERNST 1976), aber auch, daß jene Stoffwechselwege, die das "turnover", also sowohl die Synthese- wie auch die Abbauwege der POD steuern, *in vivo* schwermetallunempfindlicher sind als vergleichsweise entsprechende Stoffwechselwege der Esterase. RÜCKER & RADOLA 1971 konnten in *Nicotiana*-Gewebekulturen durch Behandlung mit Wuchsstoffen ebenso keine qualitative Veränderung des POD-Musters feststellen. Die Wirkung von Blei auf die POD (*in vivo*) könnte, wenn man Vergleiche mit der Esterase (MAIER 1977a) oder der Sauren Phosphatase (MAIER 1978) zieht, so verstanden werden, daß nicht unmittelbar jene innerhalb des „turnover" eingeschalteten Enzyme durch Blei geschädigt, sondern daß Veränderungen außerhalb des POD-Systems dieses zu verstärkter Leistung anregen. Denn: in den Wurzeln und Blättern von *Zea*, aber auch in den Blättern von *Medicago* konnte eine erhöhte POD-Aktivität in den verbleiten Pflanzen nachgewiesen werden (Fig. 1—4, 6). Nur in den Wurzeln von *Medicago* tritt eine geringfügige Depression auf (Fig. 5).

Die Stimulierung eines Enzyms kann verschiedene Ursachen haben. Es könnte die POD-Synthese verstärkt oder der Abbau der Enzyms verzögert sein. Weiters wäre eine erhöhte Aktivität zu erklären, wenn eine

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

Hemmung von Enzymen eintritt, die zur POD in einem antagonistischen Verhältnis stehen (KELLER & SCHWAGER 1971). Es ist aber auch eine Aktvierung latenter POD-Moleküle denkbar, wie dies z. B. NEWMARK & WENGER (zit. n. WYEN *et al.* 1971) für Phosphatasen in *Avena*-Blättern nach Behandlung mit Detergentien feststellen konnten. Schließlich denkt FLÜCKIGER 1975 an eine Förderung der POD durch Drittstoffe, die durch den Bleieinfluß neu, vermehrt oder vermindert auftreten könnten. Er verweist dabei auf Versuche von HERZMANN 1959.

Ebenso könnte in Betracht gezogen werden, daß durch die Verbleiung die physiologische Alterung vorangetrieben wird, als dessen Folge, analog z. B. zu FARKAS-RIEDELS (1967) Ergebnissen, die POD-Aktivität ansteigt.

LÜCK 1962 und PÜTTER 1971 weisen auf die Möglichkeit pseudoperoxydatischer Reaktionen bei der Aktivitätsbestimmung hin. Einige organische Verbindungen können in Abwesenheit der POD durch H_2O_2 bei Anwesenheit von Schwermetallspuren oxydiert werden. In erster Linie sind es Hämproteide (die POD gehört in diese Gruppe), die in Frage kommen (HOSOYA & MORRISON 1967). Auf diese Weise würde eine gewisse POD-Aktivität vorgetäuscht werden. Durch das elektrophoretische Trennverfahren werden niedermolekulare Stoffe weitestgehend ausgeschaltet, sodaß im Hinblick auf pseudoperoxydatische Reaktionen im wesentlichen Hämproteide übrigbleiben. Da aber solche Reaktionen unter Beteiligung von Schwermetallspuren zustande kommen, besteht kaum Gefahr, daß nach der Elektrophorese, außer multiplen POD-Enzymen, andere Proteide während der Entwicklung des Zymogramms wirksam werden. Sie könnten jedenfalls nicht dazu ausreichen, um derart hohe Aktivitätssteigerungen in verbleiten Pflanzen, wie sie hier aufgezeigt werden, zu erklären.

Bleibt noch die Frage, ob Blei die POD direkt stimulieren kann. FLÜCKIGER 1975 fand bei sehr geringen Bleikonzentrationen (1 ppm) in reiner Meerrettich-POD, bei höheren Bleigehalten (200 ppm) in *Ricinus*-Homogenaten eine Stimulierung der POD. In eigenen Versuchen konnte weder im Reinenzym noch in Maiswurzel-Extrakten bei vergleichbaren Bleikonzentrationen eine Aktivierung der POD beobachtet werden (*in prep.*) Die Ergebnisse stimmen mit ERNST 1976 überein, der in pflanzlichen Extrakten, die mit Blei versetzt worden waren, bis 0,001 mM Pb keine Veränderung, bei höheren Konzentrationen eine Abnahme der Enzymaktivität feststellte.

Wenn man eine allmähliche Zunahme der Bleikonzentration mit der Zeit im Wurzelkörper voraussetzt, würde man vorerst eine Abnahme der POD-Aktivität erwarten, wie dies bei anderen Enzymen der Fall ist (MAIER 1977a, b, 1978). Beim Vergleich 5 und 19 Tage lang verbleiter Maiswurzeln findet man jedoch eine höhere Aktivität in den länger verbleiten Wurzeln, ein Ergebnis, wie es bei Esterase, MDH und Saurer Phosphatase durchwegs im Blatt beobachtet werden konnte (MAIER 1977a, b, 1978). Da

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

im Fall der POD, was die ökologischen Parameter während der Verbleiung anbelangt, nicht gleichwertige Serien gegenübergestellt werden, kommt umso deutlicher zum Ausdruck, daß nicht ausschließlich primäre Bleieffekte (Hemmung durch direkten Kontakt mit dem Enzym, vgl. MAIER 1977a) wirksam werden, sondern daß sekundäre Bleieinflüsse (Störungen außerhalb des POD-Systems, die eine Stimulierung der POD nach sich ziehen, vgl. auch MAIER 1977a) erstere sogar überlagern. Vielleicht könnte man das starke Ansteigen der POD-Aktivität im Sinne eines Repair-Mechanismus deuten. Es fällt nämlich auf, daß in 5 Tage lang verbleiten *Zea*-Wurzeln bei 500 ppm Pb die Aktivität unter den Kontrollwert sinkt (Fig. 1), in 19 Tage lang verbleiten dagegen nicht (Fig. 3). Es ist zu vermuten, daß eine 5tägige Verbleiung mit 500 ppm Pb bereits genügt, um mit dem POD-Molekül in Kontakt zu kommen (Folge: primäre Wirkung), daß aber das POD-System selbst noch nicht auf Störungen irgendwo im Stoffwechsel in dem Maße reagiert (sekundäre Wirkung), wie dies nach 19 Tagen der Fall ist.

Obwohl die Anzuchttemperatur das Ergebnis grundsätzlich nicht verändert (Steigerung der POD-Aktivität bei 200 ppm und 500 ppm), ist dennoch der Grad der Stimulierung bei 17° C und 32° C verschieden, die POD wird stärker stimuliert, wenn die Pflanzen bei 17° C angezogen wurden. Gründe dafür könnten die stärkere Akkumulierung von Blei in der Wurzel durch die höhere Temperatur sein (in prep.; BROYER *et al.* 1972), sodaß der primäre Bleieffekt stärker zum Ausdruck kommt als bei 17° C. Es wäre aber weiters denkbar, daß die durch höhere Temperatur beschleunigten physiologischen Prozesse zu einer schnelleren Schadenserweiterung führen und damit die Einschränkung jener Prozesse, welche die POD-Aktivität anheben, erklären (Fig. 3).

Eine erhöhte POD-Aktivität in Blättern schadstoffbelasteter Pflanzen wurde mehrfach nachgewiesen, u. a. von WELLBURN *et al.* 1976, HORSMAN & WELLBURN 1975, ZUBER *et al.* 1973, KELLER 1974, FLÜCKIGER 1975 und CURTIS *et al.* 1976. Es ist offenbar, daß die POD in den Blättern von *Zea mays* und *Medicago sativa* auf das Blei nicht primär reagiert. Die POD-Aktivität steigt sogar mit höherem Bleiangebot (Fig. 3 und 6), obwohl mit zunehmender Bleibelastung der Wurzel auch der Blattbleigehalt zunimmt (z. B. SUCHODOLLER 1967).

Die geringere Kationenaustauschkapazität der Gramineen gegenüber Dikotylen, der niedrigere Gehalt an zweiwertigen Kationen in Monokotylen (z. B. CROOKE 1964) und damit im Zusammenhang die schwächere Bleiaufnahme und geringere -empfindlichkeit der Gramineen gegenüber Leguminosen (SCHARRER & SCHROPP 1936, SUCHODOLLER 1967) ist neben der längeren Behandlungsdauer von *Medicago* gegenüber *Zea*, sicherlich mit ein Grund für das voneinander abweichende enzymatische Verhalten. Wenn auch für die qualitative Auslegung des multiplen Formenmusters der POD das gleiche wie für *Zea* gilt (keine Veränderung durch Blei), so zeigt sich in

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

der Aktivität der POD in der Wurzel von *Medicago* keine Förderung, sondern eine, wenn auch geringe Abnahme der relativen Aktivität in den verbleiten Pflanzen. Es ist wahrscheinlich, daß dies in erster Linie auf direkten Bleikontakt mit dem Enzym zurückzuführen ist, sodaß sekundäre Vorgänge hier, im Gegensatz zu POD in der Wurzel von *Zea*, durch diesen überdeckt werden (Fig. 5).

Im Blatt von *Medicago* wird die POD durch Blei stimuliert. Bei 32° C ist die Erhöhung stärker als bei 17° C. In der Wurzel von *Zea*, in der die POD ebenfalls stimuliert wird, ist die Temperaturwirkung umgekehrt. Die für die Wurzel von *Zea* geltenden Möglichkeiten der Bleiwirkung wurden bereits erörtert. In den Blättern von *Medicago* sind primäre Bleiwirkungen auf die POD aufgrund der geringen Mobilität von Blei sicherlich von untergeordneter Bedeutung. Man könnte daher annehmen, daß in der 32° C-Serie ein als Repair-Mechanismus zu interpretierender Vorgang verstärkt einsetzt, da einerseits die Möglichkeit besteht, daß bei höheren Temperaturen mehr Blei in die Blätter transportiert wird (sodaß dort die Stoffwechselschäden zunehmen), andererseits, daß die in der Wurzel manifestierten Schädigungen bei einer höheren Temperatur ausgeprägter sind als bei niedrigerer Temperatur (Fig. 6).

Literatur

Bergmeyer H. U. 1970. Methoden der enzymatischen Analyse. Bd. 1, 2. Aufl. — Verlag Chemie, Weinheim.

Birecka H., Catalfamo J. L. & Urban P. 1975. Cell wall and protoplast isoperoxidases in Tabacco plants in relation to mechanical injury and infection with Tobacco Mosaic Virus. — Plant Physiol. 55: 611—619.

Broyer T. C., Johnson C. M. & Paull R. E. 1972. Some aspects of lead in plant nutrition. — Plant and Soil 36: 301—313.

Chen S.-L., Towill L. R. & Loewenberg J. R. 1970: Isoenzyme patterns in developing *Xanthium* leaves. — Physiologia Plant. 23: 434—443.

Crooke W. M. 1964. The measurement of the cation-exchange capacity of plant roots. — Plant and Soil 21: 43—49.

Curtis C. R. & Barnett N. M. 1974. Isoelectric focusing of peroxidases released from soybean hypocotyl cell walls by *Sclerotium rolfsii* culture filtrate. — Can. J. Bot. 52: 2037—2040.

— —, Howell R. K. & Kremer D. F. 1976. Soybean peroxidases from ozone injury. — Environ. Poll. 11: 189—194.

Ernst W. 1972. Schwermetallresistenz und Mineralstoffhaushalt. — Foschgsber. d. Lds. Nordrhein-Westfalen 2251, Westdeutscher Verlag, Opladen.

— —. 1976: Physiological and biochemical aspects of metal tolerance. In: Mansfield T. A. (Ed.). Effects of air pollutants on plants. — Soc. f. expl. Biol. Seminar Series 1: 115—133. Cambridge University Press, Cambridge.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

FANKEL R. 1973. Fruchtproteine und ihre gelelektrophoretische Auftrennung. — Diss., Hochschule f. Bodenkultur, Wien.

FARKAS-RIEDEL L. 1967. Changes in peroxidase activityg o durinntogenesis in *Pepaver somniferum* var. SB-Morfin. — Acta bot. hung. 13: 235—238.

FLÜCKIGER W. 1975. Der Einfluß aufgesprühter Bleilösungen auf physiologische Prozesse bei *Ricinus communis* L. — Ber. Eidg. Anstalt f. d. forstl. Versuchswesen, Birmensdorf, Nr. 142.

HERZMANN H. 1959. Biochemische Untersuchungen über den Stoffwechsel gesunder und brennfleckenkranker Bohnen. — Phytopath. Z. 34: 109—136.

HORSMAN D. C. & WELLBURN A. R. 1975. Synergistic effect of SO_2 and NO_2 polluted air upon enzyme activity in pea seedlings. — Environ. Pollut. 8: 123—133.

HOSOYA T. & MORRISON M. 1967. A study of the hemoproteins of thyroid microsomes with emphasis on the thyroid peroxidase. — Biochemistry 6: 1021—1026.

KELLER Th. 1974. The use of peroxidase activity for monitoring and mapping air pollution areas. — Eur. J. For. Path. 4: 11—19.

— — & ZUBER R. 1970. Über die Bleiaufnahme und Bleiverteilung in jungen Fichten. — Forstw. Cbl. 89: 20—26.

— & SCHWAGER H. 1971. Der Nachweis unsichtbarer („physiologischer") Fluor-Immissionsschädigungen an Waldbäumen durch eine einfache kolorimetrische Bestimmung der Peroxydaseaktivität. — Eur. J. For. Path. 1: 6—18.

LÜCK H. 1962. Peroxydase. In: BERGMEYER H. U. Methoden der enzymatischen Analyse. — Verlag Chemie, Weinheim.

MACKO V., WOODBURY W. & STAHMANN M. A. 1968. The effect of peroxidase on the germination and growth of mycelium of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. — Phytopathology 58: 1250—1254.

MÄDER M., MEYER Y. & BOPP M. 1975. Localisation of peroxidase in protoplasts and cell walls of *Nicotiana tabacum* L. — Planta 122: 259—268.

MAIER R. 1977a. Der Einfluß von Blei auf die Aktivität der Esterase und ihrer multiplen Formen. — Biochem. Physiol. Pflanzen 171: 455—468.

— 1977b. Die Wirkung von Blei auf die NAD^+-abhängige Malat-Dehydrogenase in *Medicago sativa* L. und *Zebrina pendula* Schnizl. — Z. Pflanzenphysiol. 85: 319—326.

— 1978. Untersuchungen zur Wirkung von Blei auf die Saure Phosphatase in *Zea mays* L. — Z. Pflanzenphysiol. 87: 347—354.

MAURER H. R. 1971. Disk electrophoresis and related techniques of polyacrylamide gel electrophoresis. — de Gruyter, Berlin.

MEUDT W. J. & STECHER K. J. 1972. Promotion of peroxidase activity in the cell wall of *Nicotiana*. — Plant Physiol. 50: 157—160.

PARISH R. W. 1975. The lysosome concept in plants: I. Peroxidases associated with subcellular and wall fractions of maize root tips: Implications for vacuole development. — Planta 123: 1—13.

PÜTTER J. 1970. Peroxydasen. In: BERGMEYER, H. U. Methoden der enzymatischen Analyse. — Verlag Chemie, Weinheim.

©Verlag Ferdinand Berger & Söhne Ges.m.b.H., Horn, Austria, download unter www.biologiezentrum.at

RÜCKER W. & RADOLA B. J. 1971. Isoelectric patterns of peroxidase isoenzymes from tobacco tissue cultures. — Planta 99: 192—198.

SCANDALIOS J. G. 1974. Isoenzymes in development and differentiation. — Ann. Rev. Plant Physiol. 25: 225—258.

SCHARRER K. & SCHROPP W. 1936. Über die Wirkung des Bleis auf das Pflanzenwachstum. — Z. Pfl. Ernähr. Düng. Bodenkde. 43: 34—43.

SIEGEL S. M. 1955. The biochemistry of lignin formation. — Physiologia Plant. 8: 20—32.

STAFFORD H. A. 1974. The metabolism of aromatic compounds. — Ann. Rev. Plant Physiol. 25: 459—486.

SUCHODOLLER A. 1967. Untersuchungen über den Bleigehalt von Pflanzen in der Nähe von Straßen und über die Aufnahme und Translokation von Blei durch Pflanzen. — Ber. schweiz. bot. Ges. 77: 266—308.

WALTER K. E. & GORDON J. C. 1975. Peroxidases as indicators of growth and differentiation in aspen callus cultures. — Physiol. Plant. 33: 219—233.

WELLBURN A. R., CAPRON T. M., CHAN H.-S. & HORSMAN D. C. 1976. Biochemical effects of atmospheric pollutants on plants. In: MANSFIELD T. A. (Ed.). Effects of air pollutants on plants. — Soc. f. exp. Biol. Seminar Series 1: 105—114. Cambridge University Press, Cambridge.

WYEN N. V., UDVARDY J. & FARKAS G. L. 1971. Changes in the level of acid phosphatases in *Avena* leaves in response to cellular injury. — Phytochem. 10, 765—770.

ZUBER R., MOERI P. & BOVAY E. 1973. L'assorbimento del piombo da parte della pianta tramite la radice. Con studio particolare sull'attività enzimatica. Parte seconda. — Schweiz. Landw. Forschg. 12: 291—306.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Phyton, Annales Rei Botanicae, Horn

Jahr/Year: 1978

Band/Volume: 19_1_2

Autor(en)/Author(s): Maier Rudolf

Artikel/Article: Aktivität und multiple Formen der Peroxydase in unverbleiten und verbleiten Pflanzen von Zea mays und medicago sativa . 83-96