

# 不同污染经历的玉米在高低温胁迫下 SOD 酶活性的变化\*

王海娟<sup>1,2</sup>, 段昌群<sup>1</sup>, 郭涛<sup>1</sup>

(1. 云南大学 生命科学学院 云南生物资源保护和利用重点实验室, 云南 昆明 650091;

2. 昆明理工大学 环境科学与工程学院, 云南 昆明 650093)

**摘要:** 利用经历过污染时间长度不同的 2 个玉米品种的各 4 个种群进行高低温胁迫后, 测定其叶片 SOD 酶活性, 根据其变化分析经历污染后的种群抵抗温度胁迫的能力的变化, 结果表明: 随着污染经历的延长, 各玉米种群的抵抗高低温胁迫的能力均有增加, 玉米对污染及温度胁迫的适应呈现一定的协同性。

**关键词:** 玉米; 高低温胁迫; 超氧化物歧化酶(SOD)

**中图分类号:** Q 945.79; Q 945.78 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-7971(2004)01-0080-05

环境污染逐渐严重, 成为生物在其进化发展史上从未接触过的全新环境。很长时间以来, 人们重点关注的是环境污染的短期急性效应和直接的破坏作用, 例如: 对于污染条件下植物的生理生化、生长和遗传适应上的变化有大量报道<sup>[1-4]</sup>。污染后植物的适应性有何变化是当前污染进化生态学中的研究热点。虽然关于高低温、干旱、盐害等胁迫条件下植物响应的研究很多, 但对于在污染环境中生长的植物耐受其它环境胁迫的能力的研究报道还很少见<sup>[5-7]</sup>。

超氧化物歧化酶(SOD)是广泛存在于一切好气生物中的防御超氧阴离子自由基对细胞伤害的抗氧化酶, 为植物自身保护系统的重要成员, 它的活性变化经常作为反映植物抵抗胁迫的能力大小的指标。本研究利用经历过不同时间重金属污染的玉米进行高低温胁迫模拟, 测定其叶片 SOD 酶活性的变化, 以分析不同污染经历植物对高低温胁迫的适应能力。

## 1 材料与方法

**1.1 实验材料** 本研究所用的实验材料为玉米

(*Zea mays*), 包括兰白玉和兰黄玉 2 个品种, 各种群均采自云南兰坪(见表 1)。兰坪县为我国最大的铅锌矿区, 当地属少数民族地区, 种植玉米品种单一, 并且通常在原地块选留种连续种植。该区域开矿冶炼历史较长, 不同年代剥落表土种植玉米情况经常存在。通过筛选、鉴定收集了兰白玉、兰黄玉 2 个品种各 4 个种群, 它们所在土壤污染背景相同, 但持续种植时间不同, 因此可以看作为经历过不同污染时间的序列。各材料来源地重金属污染特征已有另文报道<sup>[8]</sup>。在表 1 中, WCK 和 YCK 种群分别代表采自兰坪县西部无污染地区多年连续种植的兰白玉和兰黄玉种子, 作为对照种群, S, M, L 分别代表经历过短期(5 a)、中期(15 a)和长期(25 a)复合重金属污染(包括 Pb, Zn, Cd, Cu 等污染)的玉米种子。

**1.2 实验方法** 各种群的玉米种子在未受过人为污染的实验地中栽种, 当幼苗生长 1 个月左右时移栽到实验室花盆中继续用土培养, 用 HE 营养液育苗, 当幼苗恢复正常生长后开始温度胁迫处理。胁迫处理在光照培养箱中进行, 低温温度设置为 5℃, 在不同时间范围内测量叶片 SOD 酶活性; 高

\* 收稿日期: 2003-09-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39970142, 30270284); 教育部骨干教师资助项目(GG180-10673-2001); 云南省自然科学基金重点资助项目(2002C0001Z)。

作者简介: 王海娟(1979-), 女, 内蒙古人, 硕士, 主要从事环境生物学方面的研究。

温设定为 38.0℃, 每 4 h 测定 1 次 SOD 酶活性. 其中各玉米种群分别有 3 株幼苗待测, 每株每次依次从基部向上取 1 片叶片的叶尖进行 SOD 酶活性测定.

表 1 实验材料的名称、代号及来源

Tab.1 Name, code and sources of experimental materials

种群代号	材料来源
WCK	兰坪县城西部多年连续种植, 无重金属污染的兰白玉品种, 作为对照种群
WS	兰坪县金顶镇大龙办事处连续种植, 自 1990 年以来开矿, 经历 5 a 左右重金属污染的兰白玉品种
WM	兰坪县金顶镇七连社连续种植, 自 1980 年开始开矿并冶炼, 经历 15 a 重金属污染的兰白玉品种
WL	兰坪县金顶镇大龙办事处连续种植, 冶炼厂集中, 经历 25 a 左右的重金属污染的兰白玉品种
YCK	兰坪县城西部多年连续种植, 无重金属污染的兰黄玉品种, 作为对照种群
YS	兰坪县金顶镇大龙办事处连续种植, 经历开矿、冶炼、矿灰肥地约 5 a 左右的兰黄玉品种
YM	兰坪县通甸乡下甸村连续种植, 经历开矿、冶炼、矿灰肥地 15 a 左右的兰黄玉品种
YL	兰坪县金顶镇金凤办事处连续种植, 经历开矿、冶炼 25~ 30 a 左右的污染兰黄玉品种

检测超氧化物歧化酶(SOD)活性用氮兰四唑光化还原法, 即通过测定被超氧阴离子自由基( $O_2^{\cdot-}$ )氧化或还原后物质的变化, 计算出 SOD 酶的活性<sup>[9]</sup>. 本研究过程中称取约 0.5 g 叶尖进行研磨, 利用纱布过滤后在 10 500 r/min 离心 20 min 即得粗酶液, 取 0.2 mL 酶液处理待测. 测定时实验室内温度为 21℃, 光强为 5 000 lx 左右. 酶活性单位表示为(U/mL).

## 2 结果与分析

2.1 不同污染经历的玉米种群对高温胁迫的适应性 为了便于同比分析, 本文将以各个种群处理前的 SOD 活性值作为参比 1, 则高温胁迫下各个种

群玉米的 SOD 酶活性变化换算后如图 1 所示, 从图 1 可以看出: 在面临高温胁迫时 2 个品种的各个种群(除 WL 和 YL 外)都呈现先下降再上升然后又下降的变化趋势. 即刚刚开始受热胁迫时, 各个种群的 SOD 酶活性都下降, 表明各玉米种群在高温条件下均受到影响, 并且在我们的测定范围内这次下降达到了各种群 SOD 活性的最低值. 例如 SOD 活性分别下降到 WCK: 0.598 U/mL, WL: 0.793 U/mL, YCK: 0.6901 U/mL, YL: 0.9947 U/mL. 随着高温的持续作用, 各种群玉米的 SOD 酶活性又逐渐增加, 说明各个玉米种群开始对高温产生了适应性调整, 但是当胁迫超过 12 h 后, 除 WL 和 YL 外各个种群的 SOD 酶活性又有所下降, 但是仍保持在热胁迫初期的下降值之上, 例如在 24 h 测定各 SOD 活性为 WCK: 0.8428 U/mL, WL: 1.174 8 U/mL, YCK: 0.722 1 U/mL, YL: 1.337 2 U/mL, 表明各个种群的玉米都有一定的耐热性. 从图 1 中还可以发现在高温胁迫下 2 个品种的各玉米种群在经历污染后的 SOD 酶活性都比对照种群有所增加, 而且污染经历越长的玉米种群, 其热胁迫下 SOD 活性响应曲线位置越高, YL 种群的响应曲线始终处于最高位置, (SOD 变化为 0.994 7~ 1.324 9 U/mL), 表明 YL 对高温的适应能力更强. 通过 t 检验, 可知 WL ( $T = 2.2785 > T_{0.05(9)} = 2.262$ ) 和 YL ( $T = 2.3054 > T_{0.05(9)} = 2.262$ ) 已经与对照种群有了显著差异, 说明经过长期 Pb, Cd, Zn 复合污染的玉米种群已经对污染有了一定的适应, 而且这种适应提高了玉米对高温的抗性.

2.2 不同污染经历的玉米种群对低温胁迫的适应性 同样, 为便于同比分析, 本文也将处理前各玉米种群的 SOD 酶活性作为参比 1, 则低温胁迫下各种群的 SOD 活性换算后如图 2 所示, 从图 2 可以看出: 在低温处理条件下, WS 种群的 SOD 酶活性的变化趋势类似于高温胁迫下的响应曲线, 也是先下降再增加然后又下降的变化趋势. 而其它种群在低温胁迫下 SOD 酶活性响应曲线呈“V”形, 与 WL 和 YL 的响应曲线相似, 即呈现出先下降再上升的变化趋势. 如在胁迫开始 2.5 h 时, 也达到了下降的最低值, 而且此时兰黄玉的 4 个种群的 SOD 活性都比兰白玉各种群的 SOD 值低, 并且也随着污染经历的延长而下降幅度减小; 而后随着低温胁迫的持续, 玉米产生了适应性调整, 其 SOD 活

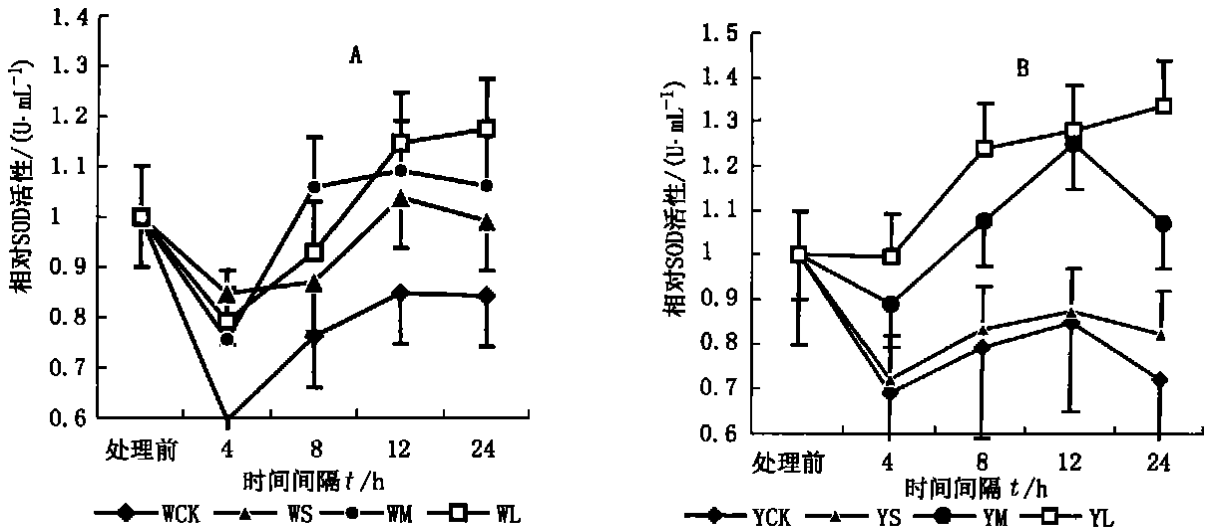


图 1 高温胁迫下不同玉米种群 SOD 酶活性的变化(A: 兰白玉品种; B: 兰黄玉品种)

Fig. 1 Change of SOD activity of different corn population exposed to high temperature(A: lanbaiyu populations; B: lanhuangyu populations)

性又逐渐上升,一直持续到 24 h(即本次研究的最后一次测定).

然而,由 SOD 活性变化数值可以看出 YCK 的响应曲线处于最下方,向上依次为 WCK, YS, WS, YM, WM, YL,最上方是 WL,由处理初期的下降值 YCK(0.423 9 U/mL)小于 WCK(0.768 8 U/mL)的 SOD 活性表明:兰黄玉品种的耐寒性本身比兰白玉品种要弱.并且由 SOD 活性变化幅度还可以看出:2 个品种的玉米与各自相应的对照种群相比,在经历过污染以后的兰白玉种群的抗寒性增加幅度比兰黄玉种群的增加幅度要大,表明在经历污染的适应性分化后,其抵抗低温的能力强于兰黄玉相应种群,而且各玉米种群随着污染经历的延长对低温胁迫的抵抗能力也增加.从而可以认为:兰白玉品种的抗污染与抵抗低温胁迫的协同性较强,且适应比较快.通过  $T$  检验也可以说明这一问题, (其中 WL( $T = 2.515 > T_{0.05(9)} = 2.262$ ), WM( $T = 2.276 > T_{0.05(9)} = 2.262$ ), YL( $T = 2.345 > T_{0.05(9)} = 2.262$ )说明 WM, WL, YL 种群的适应能力已经与对照种群有了显著差异,经过长期 Pb, Cd, Zn 复合污染的玉米种群对污染已经有了一定的适应,并且同时提高了其对低温的抵抗能力.

由本研究结果还可以看出:在高温胁迫 12 h 后各个种群的 SOD 活性都开始下降,而低温处理 12 h 时只有 WS 开始下降,其它种群的 SOD 活性仍在增加,表明玉米种群对低温的适应忍耐能力比

高温胁迫要大,虽然玉米为 C<sub>4</sub> 植物,本身就具有比较耐热的特性,而材料采自兰坪县高寒山区,最高采集地点(如兰白玉品种)的海拔为 2 300 m 左右,达到了玉米分布的上限,从而使玉米种群在农民的选择性留种作用下对低温有了更快的适应和抵抗能力.

### 3 讨论

许多逆境能影响植物体内活性氧代谢系统的平衡,以至使生物受害. SOD 是生物体内重要的能够清除活性氧自由基的酶类,可以淬灭超氧阴离子自由基( $O_2^{\cdot-}$ )的毒性,终止由其启动的一系列自由基连锁反应,从而减少生物受害.故可通过测定植物体内的 SOD 活性来反映植物受温度胁迫的伤害程度及抵抗能力.

本研究中高低温胁迫后不同种群玉米的 SOD 酶活性变化趋势也表明了各个种群耐受温度胁迫的能力.其中 WL, YL 两种群的 SOD 响应曲线始终处于各个种群的上方,且在受胁迫 12 h 后 SOD 酶活性仍在增加,表明了它们的较强抗性,这进一步表明:经历污染时间越长的玉米种群对环境的适应能力已经恢复了“正常”水平,甚至在面对温度胁迫时,其 SOD 活性更高,抵抗高低温胁迫的能力也更强.刘鸿先等的研究指出,不耐寒品种黄瓜幼苗在受低温胁迫时比耐寒品种的 SOD 酶活性下降幅度大,并且认为植物耐寒力与其体内维持较高的

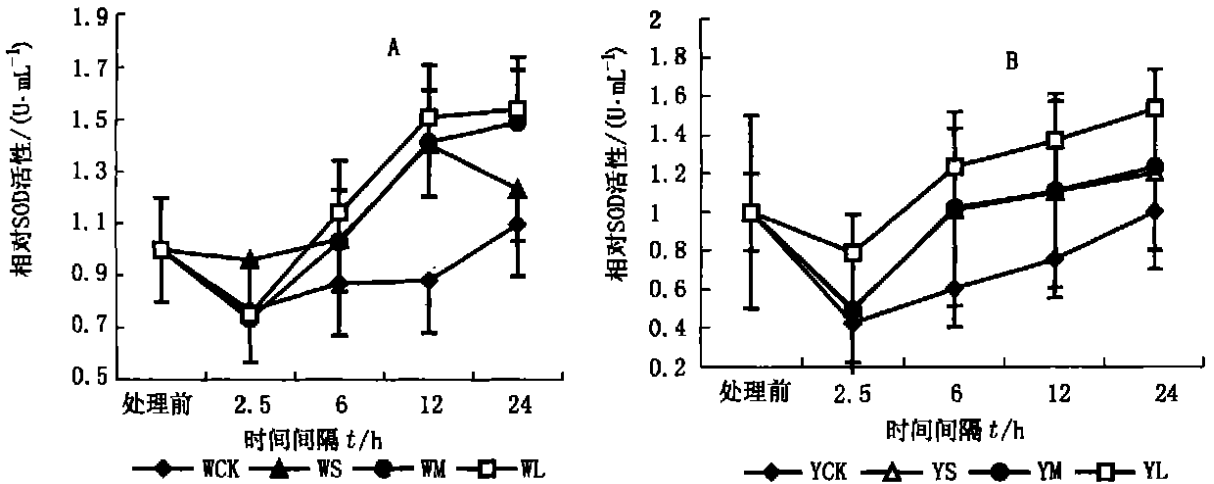


图2 低温胁迫下不同污染经历的玉米种群的 SOD 酶活性变化(A: 兰白玉品种; B: 兰黄玉品种)

Fig. 2 Changes of SOD activity of different pollution periods of corn populations exposed to low temperature(A: lanbaiyu pinzhong; B: lanhuangyu pinzhong)

SOD 酶活性有关,这也验证了我们的研究结果<sup>[5]</sup>。另外也有人研究过 *Agrostis stolonifera* (禾本科菵荩小糠草) 经历铜污染不同时间范围的居群的平均抗铜能力是随着时间的延长而增加的,这也说明了经历长期污染的生物会对其所处的污染环境有一定的适应性<sup>[10]</sup>。这也与本研究有一定的相似性。

本研究表明经历污染时间越长的玉米面临高低温胁迫时其 SOD 活性越高,抵抗能力越强,表现出对污染的适应和分化,以及对高低温胁迫环境的适应能力的分化。而张太平等人的研究结果表明:经历较长期重金属污染的玉米种群在正常条件下栽种,具有较低的相对增长率,生活史缩短,植株矮化,产量降低,即玉米对重金属的适应导致了生态分化和品种退化的适应代价<sup>[8]</sup>。段昌群、文传浩等对不同污染经历的曼陀罗的生理生化研究也证明了经历过长期污染的玉米和曼陀罗种群发生了一定的适应性变化,这种适应性变化可能会以失去对其它环境的适应为代价<sup>[11,12]</sup>。这是否与本研究结果有冲突呢?我们认为并非如此,因为玉米对污染的适应与对温度胁迫的适应可能具有一定的协同性,从而导致污染经历越长的玉米种群在对污染有了一定程度的适应后,还对温度胁迫有了一定程度的适应,即随着污染时间的推移,玉米种群的生理变化没有降低它对温度胁迫的适应,反而增加了其抵抗能力。

污染导致的进化分化远比自然界分化过程快。

玉米之所以适应如此之快,还因为其为人工栽培品种,农民本身选择长势好、适应性强的留种,也加快了协同适应的进程。加上我们在兰坪县采集种源的地方海拔较高,已经接近玉米分布的上限,因此对低温和较大的昼夜温差变化有了很好的适应。

玉米种群对污染的适应与对温度的适应有一定的相关性,且二者有协同适应特性,但对于野生物种是否具有同样的协同适应性?对污染的适应与其它胁迫的适应是否也有协同性?在经历长期污染后,种群恢复的“正常值”何时是一种退化,何时又是一种进化?还需要进一步研究。

致谢:本试验在进行过程中得到了彭声静、裴娟和韦睿等人的大量帮助,特此深表谢意!

## 参考文献:

- [1] 段昌群. 植物对环境污染的适应与植物的进化[J]. 生态学杂志, 1995, 14(5): 43—50.
- [2] 张太平. 植物对重金属的抗性和抗性代价[J]. 云南环境科学, 1997, 16(2): 19—21.
- [3] 孔祥生, 张妙霞, 郭秀璞. Cd<sup>2+</sup> 毒害对玉米幼苗细胞膜透性及保护酶活性的影响[J]. 农业环境保护, 1999, 3: 133—134.
- [4] 王焕校. 污染生态学[M]. 北京: 高等教育出版社, 施普林格出版社, 2000.
- [5] 刘鸿先, 曾韶西, 王以柔. 低温对不同耐寒力的黄瓜幼苗子叶各细胞器中超氧化物歧化酶(SOD)的影响[J]. 植物生理学报, 1985, 11(1): 48—57.
- [6] 梁莉, 谈锋. 随气温下降大头茶膜脂脂肪酸组分

- 及膜保护系统的适应性变化[J]. 植物生态学报, 1997, 21(1): 33—37.
- [7] 李 晶, 阎秀峰, 祖元刚. 低温胁迫下红松幼苗活性氧的产生及保护酶变化[J]. 植物学报, 2000, 42(2): 148—152.
- [8] 张太平, 段昌群, 胡 斌, 等. 玉米在重金属污染条件下的生态分化与品种退化[J]. 应用生态学报, 1999, 6: 743—747.
- [9] 上海植物生理研究所. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1999.
- [10] WU L. The potential for evolution of heavy metal tolerance in plants III, The rapid evolution of copper tolerance in *Agrostis stolonifera*[J]. *Heredity*, 1975, 34: 165—187.
- [11] 段昌群. 在重金属污染条件下玉米和曼陀罗的生态分化和微进化[D]. 昆明: 云南大学, 1997.
- [12] 文传浩, 段昌群, 常学秀, 等. 重金属污染下曼陀罗种群分化的 RAPD 分析[J]. 生态学报, 2001, 21(8): 1 239—1 245.

## Change of SOD activity in corns experienced with different polluted duration under high and low temperature stresses

WANG Haijuan<sup>1,2</sup>, DUAN Changqun<sup>1</sup>, GUO Tao<sup>1</sup>

(1. School of Life Science, Lab of Yunnan Biological Resources Conservation and Development, Yunnan University, Kunming 650091, China;

2. Faculty of Environmental Science and Engineering, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650093, China)

**Abstract:** Corn varieties that had experience with different polluted duration were exposed to high and low temperature stresses, and change of superoxide dismutase (SOD) activity were determined. The results showed that all populations had adaptation to a certain extent. The resistant to extreme temperature stresses of different corn populations were enhanced with the increasing of polluting duration. As to corn population, there are some consistency in resisting pollution and extreme temperature stresses.

**Key words:** corn (*Zea mays*); high and low temperature stresses; superoxide dismutase(SOD)