

外源镉离子对大豆幼苗生长的影响

杨少瑕, 黄瑜嘉, 杨少妍, 弓雨鑫, 蔡尚宏, 吴雨琪, 刘颖*

广东海洋大学, 广东湛江

DOI:10.62836/gse.v3i2.1270

摘要: 为探究镉 (Cd) 胁迫对大豆幼苗生长及生理特性的影响, 明确其毒害效应与耐受机制, 本研究以大豆品种粤春03-3 (YC03-3) 为材料, 采用水培法设置0、1.25、2.5、5、10 $\mu\text{mol/L}$ 5个Cd浓度梯度, 处理15d后系统测定植株表型、根系抗氧化酶活性及可溶性蛋白含量变化。结果表明: 随Cd浓度升高, 大豆株高显著降低, 植株出现节间缩短、茎秆细弱、叶片卷曲等毒害症状, 生长抑制呈明显浓度依赖性; 低-中浓度 ($\leq 5\mu\text{mol/L}$) Cd胁迫下, 根系SOD、CAT、APX、POD活性均显著升高, 协同清除过量活性氧 (ROS), 维持氧化还原稳态; 高浓度 (10 $\mu\text{mol/L}$) Cd胁迫时, SOD活性急剧下降, 抗氧化系统失衡, 氧化损伤加剧; 根系可溶性蛋白含量随Cd浓度升高持续上升, 通过增强渗透调节与解毒能力缓解毒害。综上, Cd胁迫对粤春03-3幼苗具有显著剂量依赖性毒害效应, 5 $\mu\text{mol/L}$ 为其抗氧化系统耐受临界浓度, 研究结果为大豆耐镉品种筛选及污染农田安全利用提供理论依据。

关键词: 大豆; 镉胁迫; 幼苗生长; 抗氧化酶; 可溶性蛋白

Effects of Exogenous Cadmium Ions on the Growth of Soybean Seedlings

Shaoxia Yang, Yujia Huang, Shaoyan Yang, Yuxin Gong, Shanghong Cai, Yuqi Wu, Ying Liu*

Guangdong Ocean University, Zhanjiang, Guangdong

Abstract: To explore the effects of cadmium (Cd) stress on the growth and physiological characteristics of soybean seedlings, and clarify its toxic effects and tolerance mechanisms, soybean cultivar Yuechun 03-3 (YC03-3) was used as the material. Five Cd concentration gradients (0, 1.25, 2.5, 5, 10 $\mu\text{mol/L}$) were set up via hydroponics for a 15-day treatment. Plant phenotype, root antioxidant enzyme activities and soluble protein content were systematically determined. The results showed that increasing Cd concentration significantly reduced plant height, with symptoms including shortened internodes, slender stems and curled leaves, exhibiting obvious concentration-dependent growth inhibition. Under low to moderate Cd stress ($\leq 5\mu\text{mol/L}$), the activities of SOD, CAT, APX and POD in roots increased significantly, synergistically scavenging excess reactive oxygen species (ROS) and maintaining redox homeostasis. At high Cd concentration (10 $\mu\text{mol/L}$), SOD activity decreased sharply, disrupting the antioxidant

*基金项目: 2025年校级大学生创新创业训练计划项目 (项目编号: CXXL2025055)。

作者简介: 杨少瑕, 广东海洋大学滨海农业学院实验师; 黄瑜嘉, 广东海洋大学滨海农业学院本科生; *通讯作者: 广东海洋大学滨海农业学院刘颖教授。

system and exacerbating oxidative damage. Root soluble protein content increased continuously with rising Cd concentration, alleviating Cd toxicity by enhancing osmoregulation and detoxification capacity. In conclusion, Cd stress exerted a significant dose-dependent toxic effect on YC03-3 seedlings, with 5 $\mu\text{mol/L}$ identified as the critical tolerance concentration for its antioxidant system. This study provides a theoretical basis for screening Cd-tolerant soybean varieties and safe utilization of Cd-contaminated farmland.

Keywords: soybean; cadmium stress; seedling growth; antioxidant enzymes; soluble protein

1 前言

1.1 国内外发展现状

大豆 (*Glycine max* (L.) Merr.) 原产于中国, 隶属于豆科蝶形花亚科大豆属 (*Glycine*) 的一年生草本植物[1]。大豆营养价值丰富, 富含不饱和脂肪酸、矿物质、膳食纤维及多种维生素, 是优质植物蛋白与植物油的重要来源, 也是我国乃至全球最重要的油料作物和蛋白供给源[2]。作为国民经济的战略性物资, 大豆供需平衡直接关系国家粮食安全与农业可持续发展[3]。

伴随工业化进程加速与人类活动强度提升, 土壤重金属污染已成为制约农作物产量与品质的突出环境因子[4]。我国受重金属污染的耕地约占农田总面积的20%, 年均粮食减产严重, 其中镉 (Cd) 以7.0%的点位超标率位居无机污染物首位[5]。2014年《全国土壤污染状况调查公报》进一步表明, 全国土壤污染物超标率达 16.1%, 镉污染形势尤为严峻; 大豆主产区约1.5亿亩耕地中, 超过20%的土壤镉含量超过安全阈值 ($0.3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), 南方酸性红壤区超标比例甚至超过40%[6]。大豆在生长发育过程中易受干旱、盐碱、低温及重金属污染等多种逆境胁迫, 其中镉污染已成为制约大豆安全生产与品质提升的关键因素[7]。

镉是一种具有高毒性的重金属元素, 其在土壤中的积累不仅会破坏土壤生态系统的平衡, 还能通过食物链的传递, 对农作物生长、农产品质量安全乃至人体健康构成严重威胁[8]。镉元素能够通过土壤被植物体吸收, 干扰植物的正常生理代谢过程,

从而对植物生长产生毒害作用[9]。

即使在较低浓度条件下, Cd也会对植物产生明显毒害作用[10]。Cd胁迫会显著抑制植物种子萌发、根系伸长及植株生长, 降低株高、生物量和叶面积, 并导致叶片黄化、萎蔫及坏死等症状[10]。同时, Cd还能够抑制叶绿素合成及光系统活性, 降低气孔导度和净光合速率, 从而削弱植物光合作用能力[11]。氧化胁迫被认为是Cd毒害植物的重要机制之一, Cd进入植物体后会诱导大量活性氧 (ROS) 积累, 导致膜脂过氧化、蛋白质氧化及DNA损伤, 并引起丙二醛 (MDA) 含量显著升高[12,13]。为抵御ROS伤害, 植物会激活由超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、过氧化物酶 (POD) 等组成的抗氧化防御系统, 但当Cd浓度超过植物耐受阈值后, 抗氧化酶活性会逐渐下降, 导致细胞氧化损伤进一步加剧[14,15]。此外, Cd还会与Fe、Zn、Ca、Mg等植物必需矿质元素产生竞争关系, 干扰植物对营养元素的吸收与运输, 造成营养失衡和代谢紊乱[16]。

1.2 研究目的

镉 (Cd) 是农田土壤中最具生物毒性的重金属污染物之一, 具有移动性强、半衰期长、易被作物吸收积累等特点[17]。大豆作为世界上重要的经济作物和粮油作物, 其生产稳定性直接关系到农业经济与粮食供应链安全。土壤镉污染会对大豆的生长发育产生多方面的负面影响, 对镉胁迫较为敏感, 镉污染不仅抑制大豆生长发育、降低产量品质, 还会通过食物链传递威胁人体健康[18]。因此, 系统

研究镉胁迫对大豆幼苗生长及生理特性的影响,明确其耐受阈值及敏感响应指标,对于保障大豆安全生产、培育耐镉品种及治理镉污染土壤具有重要的理论价值和实践意义。本研究旨在分析不同浓度外源镉离子对大豆幼苗产生毒害效应,系统监测大豆根系的生理形态结构、抗氧化酶活性及相关指标的测定,进而探究镉元素对于大豆生长机制的影响,以期建立大豆耐镉性评价体系、指导轻度镉污染农田的安全利用提供理论依据和数据支撑。

2 材料与方法

2.1 材料

2.1.1 实验材料

本试验选用大豆品种粤春 03-3 (YC03-3) 作为供试材料,该品种种子由华南农业大学 (SCAU) 根系生物学中心 (RBC) 提供。

2.1.2 实验仪器与试剂

实验仪器:分析天平,泡沫板、钢尺,烘箱,5L黑色小桶,水培专用pH计,玻璃棒,泡沫板,冷冻离心机(Eppendorf,德国),超纯水仪(重庆利迪,中国),紫外分光光度计(杭州尚晟,中国),根系扫描系统(北京来因,中国)等。

实验试剂:大豆水培全营养液、不同浓度氯化镉的溶液(Cd浓度0、1.25、2.5、5和10 $\mu\text{mol/L}$)

磷酸缓冲液(pH6.0、pH7.0、pH7.8)、液氮、二点五水合氯化镉(沪试、中国)、磺基水杨酸(Rhawn试剂,上海,中国)、脯氨酸、30%过氧化氢溶液(罗恩试剂,中国)、EDTA(沪试,中国)、考马斯亮蓝 G-250(罗恩试剂,中国)、愈创木酚(沪试,中国)、无水乙醇(沪试,中国)、核黄素(罗恩试剂,中国)、10%TCA(罗恩试剂,中国)、0.6%TBA(罗恩试剂,中国)、NBT溶液(罗恩试剂,中国)、Met溶液(索莱宝,中国)、牛血清蛋白(罗恩试剂,中国)、磷酸(广州化学,广州,中国)和酶提取液等。

大豆全营养液配方: KNO_3 、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 、 $4\text{H}_2\text{O}$ 、 NH_4NO_3 、 MgCl_2 、 MgSO_4 、 K_2SO_4 、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 MgSO_4 、 H_2O 、 ZnSO_4 、 $7\text{H}_2\text{O}$ 、 CuSO_4 、 $5\text{H}_2\text{O}$ 、

$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ 、 $4\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Fe-EDTA}(\text{Na})$ 、 KH_2PO_4 、 NaB_4O_7 、 $10\text{H}_2\text{O}$ 。

2.2 试验方法

2.2.1 大豆幼苗沙培萌发方法

试验前1d,采用清水完全浸没黄沙,加入适量次氯酸钠溶液进行浸泡消毒,消毒时长不低于12h。消毒结束后,用无菌清水反复冲洗黄沙,直至无次氯酸钠刺激性气味残留。将冲洗后的黄沙沥干多余水分,控制黄沙处于适宜湿润状态(手握成团、松开即散),并将沙面平整压实,备用。选取颗粒饱满、形态完整、粒径均匀、无破损、无霉变的粤春03-3 (YC03-3) 大豆种子90-140粒。播种时,将种子种脐朝下,轻轻按压嵌入沙层,确保播种深度为0.5cm;种子间保持1cm左右的间距,避免相互挤压影响萌发。播后,在种子表面均匀覆盖厚度约2cm的预处理河沙,轻轻抚平沙面。将播种后的黄沙置于适宜环境条件下进行萌发培养,培养周期为3-5d。萌发期间,定期观察并调控黄沙湿度,维持其湿度恒定,避免因湿度过高导致种子腐烂或湿度过低抑制种子萌发,确保种子正常萌发。

2.2.2 大豆幼苗镉胁迫方法

待大豆种子子叶完全露出后,选取生长势一致、形态均一的幼苗,移栽至含不同浓度氯化镉的水培体系中进行胁迫培养,氯化镉浓度设置为0、1.25、2.5、5、10 $\mu\text{mol/L}$ (以Cd计),水培体系以大豆全营养液为基础(详见材料与方法2.1.2),胁迫培养周期为15d。其中,Cd浓度为0 $\mu\text{mol/L}$ 的处理组作为对照组。每个浓度处理组至少设置6株幼苗,且整个实验至少进行3次生物学重复,以保障实验结果的准确性与可靠性。培养期间,每3d调节水培液pH值至5.8-6.0;每5d更换一次水培营养液,更换后重新将pH值校准至5.8-6.0。植株培养环境控制为:昼夜温度28:25 $^{\circ}\text{C}$,光周期14:10h(光照:黑暗),光照强度240 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

2.2.3 酶液提取方法

试验样本制备时,从每个浓度处理组中随机

挑选至少5株大豆植株,各浓度组称量0.2g鲜样样品,先用去离子水冲洗大豆植株表面残留的水培营养液,再用滤纸轻轻按压样品表面,直至其无明显水分渗出。随后转移至4℃预冷处理的研钵中,加入液氮充分研磨至组织破碎,采用梯度加液法,分次添加总量为10mL的4℃预冷磷酸缓冲液(pH7.8),每次添加后充分混匀,再进行下一次添加;全程保持植物组织在低温冰浴环境下研磨,避免匀浆升温造成功能酶蛋白变性失活,直至研磨形成均匀细腻的组织匀浆。将制备完的匀浆转移至10mL离心管,并放置在冰上保存。在4℃的温度条件下,以10000g相对离心力进行离心处理20min。待离心结束后,吸取离心管中的上清液,所得即为酶活性测定的粗酶提取液,低温备用。

2.2.4 测定项目及方法

生物量和形态指标测定

水培处理15d之后,观察并拍摄各处理株的表型。使用50cm钢直尺(得力DL8040,宁海,浙江,中国)测量株高、根长。使用ScanMaker i800 Plus图像扫描仪(Zhongjing,中国上海)扫描大豆根系形态,同时使用根分析软件(Wanshen,浙江,中国)评估图像并获得有关根表面积、总根长、根尖数和根体积等数据。所有指标均进行3次生物学重复。

抗氧化酶的测定

过氧化物酶(Peroxidase, POD)活性采用愈创木酚比色法测定[19];超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)活性采用氮蓝四唑(Nitroblue Tetrazolium, NBT)光还原法测定[20];过氧化氢酶(Catalase, CAT)活性通过紫外分光光度计(型号:UV-5100B,生产厂家:上海元纬仪器有限公司,中国)进行检测[21];抗坏血酸过氧化物酶(Ascorbate peroxidase, APX)活性通过监测反应体系中抗坏血酸在290nm波长处吸光度的动态变化值进行定量计算[22]。上述所有生理指标的测定均设置3次生物学重复,以确保检测结果的可靠性与重复性。

可溶性蛋白的测定

可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝G-250染色法测定[22]。该项生理指标的测定均设置3次生物学重复,以保障检测结果的稳定性与科学性。

3 结果与分析

本研究所有实验数据均以3次独立生物学重复的平均值和标准差(SD)表示。采用SPSS统计软件对数据进行统计分析,通过单因素方差分析(One-way ANOVA)结合Waller-Duncan多重比较检验进行事后多重比较,以分析不同Cd浓度处理组与对照组之间的差异显著性。图表中条形图上方的不同字母表示各组数据间存在显著差异($P<0.05$)。

3.1 外源Cd梯度胁迫处理对大豆表型的影响

本研究测定了不同浓度镉(Cd)处理(0、1.25、2.5、5、10 $\mu\text{mol/L}$)条件下大豆的表型变化特征。实验结果表明,Cd胁迫能够显著抑制大豆生长。其中,株高是最为敏感的生长指标之一,各处理组植株高度较对照组分别下降26.97%、30.79%、47.71%和52.58%。这一结果表明,在1.25-10 $\mu\text{mol/L}$ 浓度范围内,大豆株高并未表现出任何适应性恢复或缓解趋势,镉(Cd)胁迫对大豆株高的抑制效应始终存在。与此同时,植株外部形态特征也发生了明显改变,主要表现为节间缩短、茎秆细弱、叶片卷曲及整体矮小化等(如图1)。



图1. 外源Cd浓度梯度对粤春03-3(YC03-3)表型的影响。大豆用梯度浓度的Cd处理(A:0;B:1.25;C:2.5;D:5;E:10 $\mu\text{mol/L}$),持续15d。(Bar=10cm)。

3.2 不同Cd浓度胁迫下大豆抗氧化酶系统的响应机制

为进一步探究Cd离子浓度对大豆抗氧化酶系统的作用机制，本研究选取粤春03-3（YC03-3）大豆品种为实验材料。实验设置对照组和实验组，其中对照组Cd浓度为0 $\mu\text{mol/L}$ ，而实验组分别施用1.25、2.5、5、10 $\mu\text{mol/L}$ 这四个不同浓度的Cd²⁺进行处理，对照组和实验组均进行15d的水培处理。

本实验结果表明，随着Cd浓度的增加，大豆根系APX活力呈现先升后降的趋势。与对照组相比，1.25和2.5 $\mu\text{mol/L}$ Cd处理下APX活力分别升高了15.20%和49.07%；在5 $\mu\text{mol/L}$ Cd处理下APX活力达到最高值，较对照组显著提高了130.39%；当Cd浓度进一步升高至10 $\mu\text{mol/L}$ 时，APX活力虽较峰值明显回落，但仍高于对照组35.53%。

SOD活性随Cd浓度的变化呈先升后降趋势。与对照组相比，1.25、2.5、5 $\mu\text{mol/L}$ Cd处理组根系SOD活性分别升高了34.53%、109.03%和97.29%，其中2.5 $\mu\text{mol/L}$ Cd处理下SOD活性上升幅度最为显著；而在10 $\mu\text{mol/L}$ Cd处理下，SOD活性较对照组大幅下降了67.16%，显著低于对照组水平。其中1.25、2.5、5 $\mu\text{mol/L}$ Cd处理组根系POD活力较对照组分别上升了101.97%、103.84%和112.21%，在5 $\mu\text{mol/L}$ Cd处理下达到最大值；10 $\mu\text{mol/L}$ Cd处理下POD活性虽比5 $\mu\text{mol/L}$ Cd处理下的有所下降，但仍比对照组高出76.79%，维持在较高水平（如图2）。

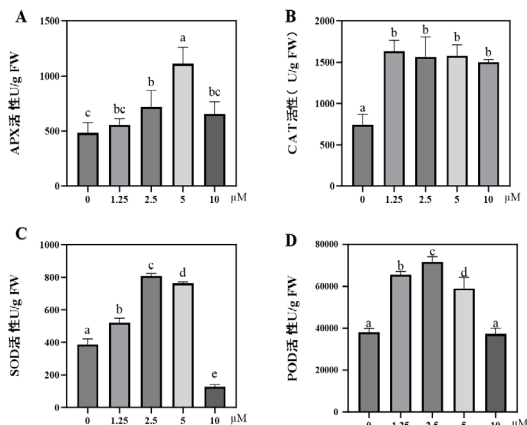


图2. 不同 Cd浓度对粤春03-3（YC03-3）根系抗氧化酶系统的影响。（A）根系APX活性；（B）根系CAT活性；（C）根系SOD活性；（D）根系POD活性

3.3 不同Cd浓度梯度调控下大豆根系可溶性蛋白含量的变化

与对照组相比，大豆根系可溶性蛋白含量在1.25 $\mu\text{mol/L}$ Cd处理下无显著变化；当Cd浓度升至2.5 $\mu\text{mol/L}$ 时，可溶性蛋白含量开始显著上升，且随Cd浓度的增加呈持续增长趋势，在2.5、5和10 $\mu\text{mol/L}$ Cd处理下分别较对照组升高了28.52%、44.92%、75.58%。

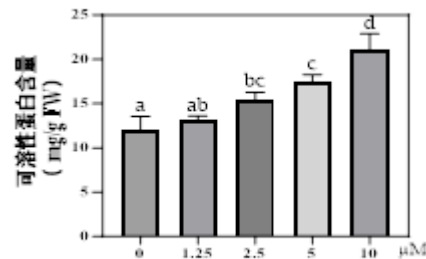


图3. 不同Cd浓度对粤春 03-3（YC03-3）根系可溶性蛋白含量的影响

4 讨论

4.1 外源Cd梯度胁迫对大豆表型的影响

重金属镉（Cd）作为环境中常见的有毒污染物，具有迁移性强、难降解、易在植物体内积累的特点[23]。Cd元素一旦进入土壤，极易被植物根系吸收并转运至地上部分，进而干扰植物正常生理代谢、破坏细胞结构，最终抑制植物生长发育，甚至通过食物链富集威胁人类健康[24]。根系作为吸收Cd的首要部位，对环境胁迫反应敏感，其形态变化能够直观反映植物对Cd胁迫的耐受程度与响应策略，因此根系指标已成为评价植物Cd胁迫响应的重要依据[23,25,26]。

低浓度Cd胁迫下，植物可通过激活抗氧化防御、螯合隔离及离子稳态调节等代偿机制维持基本生长；然而，随着Cd浓度升高，上述防御机制逐渐被突破，毒害效应呈剂量依赖性加剧，典型表现为株高显著降低、地上部生物量积累受阻及根系发育严重抑制[23]。本研究结果表明，随Cd处理浓度由1.25 $\mu\text{mol/L}$ 递增至10 $\mu\text{mol/L}$ ，大豆株高呈显著递减趋势，植株整体长势明显衰弱。综合本研究大豆表

型变化趋势来看,可证实Cd胁迫对大豆生长的抑制作用具有显著的浓度依赖性。

4.2 不同 Cd 浓度处理对大豆根系抗氧化酶的影响

环境胁迫会把植物细胞内活性氧(ROS)的生成和清除之间的动态平衡打破,使得ROS在细胞内大量积累,进而造成膜脂过氧化、蛋白质氧化修饰及DNA链断裂等氧化损伤。为应对这一情况,植物体内建立了一套多层次的抗氧化防御系统,这套系统是由酶促组分(SOD、CAT、APX等)与非酶促组分(谷胱甘肽、抗坏血酸、类黄酮等)共同构成,两者之间通过功能上的互补与信号交互实现对ROS的高效清除。已有研究表明,镉进入植物体后,一方面可通过替代 $\text{Fe}^{2+}/\text{Cu}^{+}$ 催化Fenton类反应、干扰线粒体电子传递链等途径直接促进ROS爆发[16,27];另一方面能在转录及翻译后水平上调抗氧化酶活性并诱导非酶抗氧化剂的合成,从而在一定程度上限制ROS的过度积累[28]。然而,当镉胁迫强度超过抗氧化系统所能的调节阈值时,酶蛋白的构象完整性与合成能力均可能受到抑制[29]。

镉(Cd)胁迫可诱导植物体内活性氧(ROS)大量积累,破坏ROS生成与清除之间的动态平衡,进而引发膜脂过氧化、蛋白氧化等氧化应激反应[30]。抗氧化酶系统是植物抵御ROS过氧化损伤的核心机制,其中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)及抗坏血酸过氧化物酶(APX)可协同清除 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 ,共同维持细胞内氧化还原稳态[27]。

SOD作为抗氧化防御体系的第一道防线,它能够催化超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)发生歧化反应生成 H_2O_2 和 O_2 ,从而启动下游ROS清除链式反应[31]。本研究的结果显示,SOD活性随Cd处理浓度升高呈现先升高后下降的趋势。在Cd胁迫浓度不超过 $5\mu\text{mol/L}$ 的条件下,SOD活性较对照组显著升高($P<0.05$),这表明大豆可通过提高SOD活性来增强超氧阴离子的清除效率,从而有效缓解氧化胁迫。但是,当Cd浓度提升至 $10\mu\text{mol/L}$ 时,SOD

活性急剧下降且显著低于对照组水平($P<0.05$),这表明高浓度Cd已超出SOD的应答阈值。有研究表明, Cd^{2+} 可能通过多条途径导致SOD功能丧失。一是, Cd^{2+} 可直接与SOD蛋白活性中心的Cu/Zn辅因子竞争结合,导致酶活性构象发生不可逆改变[27];二是, Cd^{2+} 可诱导蛋白质硫醇基团氧化及错误折叠,使酶的空间结构完整性被破坏[29]。三是,高浓度Cd胁迫还可能在转录水平上抑制SOD基因表达,降低细胞酶蛋白的合成速率[30]。在这一系列多重机制的共同作用下,最终使得SOD催化功能丧失,抗氧化系统第一道防线也因此崩溃。这一结论与周翠和徐勤松等人的研究是一致的,也就是说重金属胁迫下抗氧化酶活性的剂量依赖性响应存在明确的阈值效应,当胁迫强度超出该阈值后,酶促防御功能将发生不可逆的衰减[32,33]。

过氧化氢酶(CAT)主要定位于过氧化物酶体中,可高效催化 H_2O_2 分解为 H_2O 和 O_2 ,在维持细胞内氧化还原稳态中发挥着较关键作用[34]。本实验研究结果显示,各浓度Cd处理均显著提高了CAT活性,且随着Cd浓度的升高CAT活性一直维持在较高水平。这一结果表明,CAT可能对Cd胁迫具有快速的响应能力和较强的耐受性,能够在较宽的浓度范围内维持较高的催化活性,从而持续清除Cd胁迫诱导产生的过量 H_2O_2 。在水稻、菠菜中,CAT对Cd胁迫表现出快速响应能力和较强的耐受性,能够在较宽浓度范围内维持高催化活性,从而持续清除过量 H_2O_2 [35,36]。CAT之所以能有这么高的稳定性,可能与其过氧化物酶体定位有关,过氧化物酶体的膜结构可以在一定程度上保护酶蛋白免受 Cd^{2+} 的直接损伤,从而保证其在高浓度胁迫条件下仍能维持功能活性[37]。

抗坏血酸过氧化物酶(APX)以抗坏血酸(AsA)为电子供体,能够高效地将 H_2O_2 还原为 H_2O ,是AsA-GSH循环的关键组分。叶绿体基质及细胞质等区域是抗坏血酸过氧化物酶(APX)发挥清除 H_2O_2 清除作用的核心区域[38]。本研究的结果表明,APX活性随Cd处理浓度的升高呈先升后降的单峰变化趋势,当Cd胁迫浓度为 $5\mu\text{mol/L}$ 时,APX活性达到最高值,而当Cd胁迫浓度为

10 μ mol/L时，其APX活性有所下降，但仍显著高于对照水平（ $P<0.05$ ）。结果表明，APX在Cd胁迫全过程中均能维持较高的催化活性，可持续发挥清除H₂O₂的抗氧化功能。与SOD在高浓度下活性急剧衰减乃至低于对照不同的是，APX的活性仍能保持在较高水平。APX活性仍保持在较高活性可能与其底物抗坏血酸的再生能力有关。在AsA-GSH循环中，AsA可由脱氢抗坏血酸还原酶（DHAR）持续再生，能够在一定程度上缓解高浓度Cd对APX蛋白的直接抑制，使其在胁迫后期仍保留部分清除ROS的能力[39]。这一发现说明，APX相较于SOD对Cd胁迫具有更强的功能韧性，是大豆抗氧化防御网络中不可或缺的组成部分。

过氧化物酶（POD）兼具双重生理功能，一方面可高效催化H₂O₂还原，参与活性氧清除过程；另一方面与细胞壁木质化密切相关，通过促进木质素沉积增强细胞壁结构屏障，从而限制Cd向细胞内部的进一步转运[40]。本研究结果显示，POD活性随Cd处理浓度升高的变化趋势与APX高度一致，均在5 μ mol/L Cd处理下达到峰值，而在10 μ mol/L高浓度胁迫下虽有所回落，但仍显著高于对照水平（ $P<0.05$ ）。这一结果表明，POD在Cd胁迫全过程中均能维持较高的催化活性，不仅可持续执行H₂O₂清除功能，还可通过强化细胞壁木质化屏障，在胁迫后期发挥结构保护与抗氧化协同防御作用。

结合这四种抗氧化酶活性变化趋势，能够发现Cd胁迫下大豆抗氧化防御系统呈现明显的浓度依赖性响应模式。当镉（Cd）胁迫浓度不高于5 μ mol/L时，SOD、CAT、APX及POD活性均显著上调，这四种酶共同构建起完整的抗氧化防御网络，有效维持住了细胞内氧化还原稳态。然而，当Cd浓度升高至10 μ mol/L时，SOD活性急剧衰减并降低至对照水平以下，导致抗氧化系统第一道防线崩溃，ROS清除链式反应上游受阻，纵使下游CAT、APX及POD能维持在较高活性，但因底物H₂O₂的过度积累与SOD供给不足之间形成恶性循环，大豆植株体内ROS整体清除能力仍显著下降，最终导致大豆植株氧化损伤加剧。上述结果表明，SOD活性的阈值

效应是决定大豆抗氧化系统能否有效运转的关键节点，其功能一旦丧失，将引发抗氧化系统失衡，这一发现为理解高浓度Cd胁迫下植物氧化损伤的分子机制提供了重要依据。

4.3 外源 Cd 梯度胁迫对大豆根系可溶性蛋白含量变化的影响

可溶性蛋白含量是反映植物逆境响应中蛋白质合成水平与代谢状态的重要生理指标，其积累可有效提高细胞渗透调节能力，并通过增强解毒酶活性及抗氧化防御功能协同缓解重金属毒害[41]。本研究结果显示，大豆根系可溶性蛋白含量随Cd处理浓度升高呈持续上升趋势，其中2.5~10 μ mol/L Cd处理组均较对照组显著升高（ $P<0.05$ ）。这一结果表明，Cd胁迫可有效激活大豆根系的防御性蛋白合成通路，促使植物大量合成包括胁迫应答蛋白、抗氧化酶系及金属螯合蛋白（如植物螯合肽和金属硫蛋白）在内的多种功能蛋白，从而从渗透调节、ROS清除及Cd区室化隔离等多个层面协同提升对Cd胁迫的适应性[42]。值得注意的是，该变化趋势与前述抗氧化酶活性的先升后降特征存在差异，提示可溶性蛋白的积累可能代表了一种更为持久且广泛的慢性胁迫适应策略，而非仅依赖于单一酶系的快速响应[41]。

5 结论

本实验主要围绕大豆表型以及其根系在镉（Cd）胁迫下的生理调节机制展开了系统研究。研究结果表明，随Cd浓度升高，大豆植株的生物量持续降低，其地上部与根系的生长发育均受到不同程度的抑制。在高浓度Cd胁迫条件下，抗氧化酶系统的正常运行受到严重干扰，其中超氧化物歧化酶（SOD）活性急剧下降，导致活性氧（ROS）清除链式反应上游受阻，细胞内的ROS大量积累，膜脂过氧化反应持续加剧，最终导致细胞膜系统结构出现的不可逆损伤。此外，Cd胁迫还显著影响了大豆根系可溶性蛋白含量，在Cd处理下可溶性蛋白含量呈持续上升趋势，这可能与植物通过增强渗透调节能力及金属螯合蛋白合成以应对Cd毒

害的适应性机制有关。本研究通过观察大豆表型变化、测定生理生化指标与分析抗氧化酶活性,系统阐明了不同浓度Cd胁迫下大豆植株形态变化与根系代谢响应的内在关联,揭示了Cd胁迫通过破坏抗氧化防御网络平衡、诱导膜脂过氧化级联反应而加剧氧化损伤的关键调控路径。同时,研究还明确了大豆根系在低浓度Cd胁迫下可通过多种酶共同防御以减轻氧化损伤,而在高浓度镉胁迫下部分抗氧化酶系统趋于崩溃的胁迫响应特征,这种胁迫响应特征为深入理解重金属胁迫下植物的损伤与防御机制提供了重要参考。

参考文献

- [1] Guo B, Sun L, Jiang L, et al. Soybean genetic resources contributing to sustainable protein production. *Theor. Appl. Genet.* 2022, 135: 4095–4121.
- [2] 王欣悦,温晓婷,张远,等.大豆蛋白质与油脂代谢分子调控[J].土壤与作物,2026, 1-13.
- [3] Du G M, Yao L C, Han L, et al. What should be learned from the dynamic evolution of crop patterns in the black soil region of northeast China? A case study of wangkui county, Heilongjiang province. 2023, 12(8): 1574.
- [4] Xiang M T, Li Y, Yang J Y, et al. Heavy metal contamination risk assessment and correlation analysis of heavy metal contents in soil and crops. *Environmental Pollution*, 2021, 278: 116911.
- [5] Kumar S, Prasad S, Yadav K K, et al. Hazardous heavy metals contamination of vegetables and food chain: Role of sustainable remediation approaches—A review. *Environmental Research*, 2019, 179: 108792.
- [6] 陈能场,郑煜基,何晓峰,等.《全国土壤污染状况调查公报》探析[J].农业环境科学报,2017,36(09):1689-1692.
- [7] 宋勇泽.外源褪黑素对多种非生物胁迫下苗期大豆生长及其基因表达的调控[D].东北农业大学,2025.
- [8] 陈玉成,赵中金,孙彭寿,等.重庆市土壤-蔬菜系统中重金属的分布特征及其化学调控研究[J].农业环境科学学报,2003,(01):44-47.
- [9] Nagajyoti C P, Lee D K, Sreekanth M V T. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 2010, 8(3): 199-216.
- [10] Benavides M P, Gallego S M, Tomaro M L, et al. Cadmium toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 2005, 17(1): 21-34.
- [11] Parmar P, Kumari N, Sharma V. Structural and functional alterations in photosynthetic apparatus of plants under cadmium stress. Department of Bioscience and Biotechnology, Banasthali University, 2013, 54(1): 1-6.
- [12] Gill S S, Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2010, 48(12): 909-930.
- [13] Küpper H. Lead: Its Effects on Environment and Health. Berlin, Boston: De Gruyter, 2017, 491-500.
- [14] 杨红霞,陈俊良,刘巍.镉对植物的毒害及植物解毒机制研究进展[J].江苏农业科学,2019,47(02):1-8.
- [15] 刘俊,廖柏寒,周航,等.镉胁迫下大豆生长发育的生理生态特征[J].生态学报,2010,30(02):333-340.
- [16] Clemens S. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie*, 2006, 88(11): 1707-1719.
- [17] 周倍竹.有机酸对不同镉胁迫下中国无忧花生生长生理的影响[D].广西大学, 2023.
- [18] 刘佳丽.重金属镉对大豆种子萌发与幼苗生长的影响[J].农业技术与装备,2023,(12):13-15.
- [19] Rácz A, Hideg é, Czégény G. Selective responses of class III plant peroxidase isoforms to environmentally relevant UV-B doses. *Journal of Plant Physiology*. 2018, 221: 101-106.
- [20] Shi J, Zhao M, Zhang F, et al. Physiological mechanism through which al toxicity inhibits peanut root growth. *Plants*. 2024, 13(2): 325.
- [21] Srivastava A K, Singh D. Assessment of malathion toxicity on cytophysiological activity, DNA damage and antioxidant enzymes in root of *Allium cepa* model. *Scientific reports*.2020, 10(1): 886.
- [22] Ren H, Zhang B, Zhang F, et al. Integration of physiological and transcriptomic approaches in investigating salt-alkali stress resilience in soybean. *Plant Stress*. 2024, 11:100375.
- [23] 柯嘉雯,程张浩,高雪夷,等.镉污染下的植物响应:从吸收、转运到应答与缓解机制[J].植物生态学报,2026, 1-19.

- [24] Yanliang L, Ur S R, Zhixin Q, et al. Toxic effects of cadmium on the physiological and biochemical attributes of plants, and phytoremediation strategies: A review. *Environmental pollution* (Barking, Essex: 1987), 2023, 325: 121433-121433.
- [25] Zhang X, Yang M, Yang H, et al. The Uptake, Transfer, and Detoxification of Cadmium in Plants and Its Exogenous Effects. *Cells*, 2024, 13(11): 907.
- [26] 于子昊,李胜宝,赵晓玲,等.玉米根系、根鞘性状与镉吸收的品种差异研究[J].*农业环境科学学报*,2021,40(04):747-755.
- [27] Gallego M S, Pena B L, Barcia A R, et al. Unravelling cadmium toxicity and tolerance in plants: Insight into regulatory mechanisms. *Environmental and Experimental Botany*, 2012, 86: 33-46.
- [28] Ullah F H, Cai L, Couter J A, et al. Cadmium toxicity in plants: Impacts and remediation strategies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 211:111887-111887.
- [29] Ann C, Michelle P, Tony R, et al. Cadmium stress: an oxidative challenge. *Biometals: An International Journal on the Role of Metal Ions in Biology, Biochemistry, and Medicine*, 2010, 23(5): 927-40.
- [30] Luo P, Wu J, Li T T, et al. An Overview of the Mechanisms through Which Plants Regulate ROS Homeostasis under Cadmium Stress. *Antioxidants*, 2024, 13(10): 11 74-1174.
- [31] Sharma P, Dubey R S. Lead toxicity in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 2005, 17(1): 35-52.
- [32] 周翠,张雯,王婷,等.秋华柳抗氧化酶系统对镉胁迫的响应[J].*西南大学学报(自然科学版)*,2017,39(10):27-34.
- [33] 徐勤松,施国新,王学,等.镉、铜和锌胁迫下黑藻活性氧的产生及抗氧化酶活性的变化研究[J].*水生生物学* 报,2006,(01):107-112.
- [34] Palma J M, Mateos R M, López-Jaramillo J, et al. Plant catalases as NO and H₂S targets. *Redox Biol.* 2020, 34: 101525.
- [35] Pinto, F R., Mourato, M P., Sales, J R., et al. Oxidative stress response in spinach plants induced by cadmium. *Journal of Plant Nutrition*, 2017, 40(2): 268–276.
- [36] Dixit V, Pandey V, Shyam R. Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad). *Journal of Experimental Botany*, 2001, 52 (358): 1101-1109.
- [37] Sharma I, Ahmad P. *Oxidative Damage to Plants*. San Diego: Academic Press, 2014, 131-148.
- [38] Shigeoka S, Ishikawa T, Tamoi M, et al. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *Journal of Experimental Botany*, 2022, 53(72): 305–1319
- [39] Giovanni D, Silvia F, Antonella F. Regulatory networks of cadmium stress in plants. *Plant Signaling & Behavior*, 2010, 5(6): 663-667.
- [40] Finger-Teixeira A, Ferrarese Mde L, Soares A R, et al. Cadmium-induced lignification restricts soybean root growth. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2010, 73(8): 1959-1964.
- [41] Hasan K M, Hasan K M, Cheng Y, et al. Responses of Plant Proteins to Heavy Metal Stress—A Review. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 1492.
- [42] Nagib A, Takuji N, Setsuko K. Differential responses of microsomal proteins and metabolites in two contrasting cadmium (Cd)-accumulating soybean cultivars under Cd stress. *Amino Acids*, 2012, 42(1): 317-27.

