

镉胁迫下大豆生长发育的生理生态特征

刘俊^{1,2}, 廖柏寒^{3,*}, 周航³, 张永⁴, 曾敏³, 黄运湘⁴, 曾清如⁴

(1. 湖南农业大学生物科学技术学院, 长沙 410128; 2. 南华大学药学与生命科学学院, 衡阳 421001;

3. 中南林业科技大学生物技术开放性中心实验室, 长沙 410004; 4. 湖南农业大学资源环境学院, 长沙 410128)

摘要: 采用土壤盆栽试验方法, 研究了不同浓度 Cd^{2+} 胁迫对大豆整个生长发育周期的生长以及叶片叶绿素含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化物酶(POD)活性和丙二醛(MDA)含量的生理生态适应性变化过程。结果表明, (1) Cd^{2+} 胁迫对大豆整个生活周期的叶绿素含量、POD活性、SOD活性及MDA含量的影响都是极显著的 ($P < 0.01$); (2) 短时间、低浓度的 Cd^{2+} 胁迫对大豆植株的生长发育有刺激效应, 高浓度、长时间的 Cd^{2+} 胁迫对大豆植株构成明显的抑制效应; 大豆株高增长开始受到抑制的 Cd^{2+} 浓度为 $1.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 远低于大豆生物量的增长开始受抑制的 Cd^{2+} 浓度 ($2.50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$); (3) 当 Cd^{2+} 浓度超过一定水平时, 大豆植株生物量和株高的抑制程度与外源 Cd^{2+} 浓度呈极显著的正相关 ($P < 0.01$), 对土壤 Cd^{2+} 污染程度具有指示作用, 且大豆植株高度与其生物量相比, 株高对 Cd^{2+} 污染具有更好的指示作用; 大豆幼苗期叶绿素含量对镉的敏感性高于开花结荚期和成熟期的敏感性; (4) 大豆 POD、SOD活性的增加, 能在一定程度上减轻 Cd^{2+} 胁迫引起的膜脂过氧化造成的伤害作用; 在 Cd^{2+} 达到 $2.50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 水平时, 植物保护性酶系统活性的提高已经不足以弥补因 Cd^{2+} 胁迫对大豆植株造成的伤害; 大豆幼苗期和花荚期叶片的 POD活性对土壤 Cd^{2+} 污染程度具有较好的指示作用, 而大豆花荚期和成熟期叶片的 SOD活性对土壤 Cd^{2+} 污染程度具有较好的指示作用; 在 Cd^{2+} 胁迫下大豆 MDA含量增加, 表明细胞膜脂过氧化作用加强。

关键词: 大豆; 镉胁迫; 生理生态; 动态特征

Main characteristics of physiological-ecological dynamics of soybean during the growth cycle under Cd stress

LIU Jun^{1,2}, LIAO Bohan^{3,*}, ZHOU Hang³, ZHANG Yong⁴, ZENG Min³, HUANG Yunxiang⁴, ZENG Qingru⁴

1 College of Life Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China

2 College of Pharmacy and Life Science, University of South China, Hengyang 421001, China

3 Biotechnology core Facilities, Central South Forestry University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China

4 College of Resources and Environment, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China

Abstract: Growth processes of soybean plants under the stress of different Cd^{2+} concentrations and the changes of chlorophyll contents, SOD (superoxide dismutase) activities, POD (Peroxidase) activities and MDA (malondialdehyde) contents in their leaves during the whole growth cycle were studied through pot experiments. The following results were obtained: (1) During the whole growth cycle of soybean plants, the influences of Cd^{2+} stress on chlorophyll contents, SOD activities, POD activities, and MDA contents in the leaves were very significant ($P < 0.01$). (2) Growth of the plants were enhanced under low concentrations and short time of Cd^{2+} stress, and were restrained under high concentrations and long time of Cd^{2+} stress. Cd^{2+} concentration begun to restrain the plant heights was $1.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, which was far lower than that ($2.50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) begun to restrain the biomass of the plants. (3) When Cd^{2+} concentration reached a certain level, there was a very significant positive correlation between the restraining effects on biomass and height of soybean plants and Cd^{2+} concentration ($P < 0.01$), which could be used to indicate soil Cd^{2+} pollution, especially by using the correlation concerning plant height. The sensitivity of chlorophyll content to Cd^{2+} stress was higher at seeding stage than

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20677080); 湖南农业大学人才稳定基金资助项目(07WD25)

收稿日期: 2009-04-03; **修订日期:** 2009-06-16

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: liaobh1020@163.com

those at flowering and podding stages. (4) Increase of POD and SOD activities could reduce, to some extent, the injury effects of soybean plants due to membrane-lipid peroxidation caused by Cd^{2+} stress. However, when Cd^{2+} concentration reached $2.50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, further increasing activities of plant protective enzyme system did not make up enough for the soybean plant injury caused by Cd^{2+} stress. The POD activities of soybean at seedling stage and flowering-podding stage, or the activities of SOD at flowering-podding stage and mature stage, could indicate well Cd^{2+} pollution level in soil. MDA contents in soybean plants increased under Cd^{2+} stress, implying peroxidation of membrane reinforced.

Key Words: soybean; Cd stress; physiological and ecological effects; dynamics

镉是对植物具有毒害性的重金属元素之一。随着采矿业的发展和工业“三废”的排放、污水灌溉、污泥和磷肥的施用等,镉随即进入环境造成土壤污染^[1]。由于镉进入土壤后很少向下迁移,主要累积于土壤表层^[2],导致农田土壤环境质量不断恶化。进入土壤的镉通常具有较高的生物有效性,易被植物的根系吸收并积累在植物体内,不仅影响植物的生长和发育,还通过食物链最终影响人的健康。在植物系统中,由于不同植物种对土壤中镉吸收和积累的差异性,导致植物耐镉机理的复杂性,不同植物对镉具有不同的生理生态反应。近年来有关玉米、水稻、小麦、蔬菜、大豆等作物对镉的反应及生理生化方面的研究已有较多的报道^[3-10],但迄今为止,没有人对镉胁迫下作物整个生长周期的生理生态过程进行系统研究。我国广大红壤地区土壤镉污染严重,大豆作为一种主要的农作物被广泛种植。本文采用红壤盆栽试验的方法,对镉胁迫下大豆整个生长发育周期的生理生态适应性变化过程进行了系统研究,旨在筛选大豆 Cd^{2+} 污染胁迫的诊断指标,并进一步探讨红壤-大豆系统镉污染的预警机制,以期为我国红壤区农田土壤镉污染的治理以及农产品的安全保障提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试大豆 (*Glycine max*) 品种为五月王,由黑龙江省尚志市银河种苗有限公司提供。供试土壤采自湖南农业大学教学实验场,类型为第四纪红土发育的红壤。土壤基本性质采用常规分析方法测定^[11],其基本性质见表 1。

表 1 供试土壤的基本性质
Table 1 Basic properties of the tested soil

土壤类型 Soil type	pH (水浸 Flooding)	CEC $/(\text{cmol} \cdot \text{kg}^{-1})$	有机质 Organic matter $/(\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$	全 N Total N $/(\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$	全镉 Total Cd $/(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$	有效态镉 Effective Cd $/(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$
红壤 Red soil	4.42	10.24	15.59	1.409	0.090	0.040

1.2 盆栽试验

土壤样品采回后经自然风干、锤碎、过 5 mm 筛,按每 kg 土加 0.10 g N, 0.15 g P_2O_5 , 0.10 g K_2O 计算,以尿素、磷酸二氢钾、氯化钾为肥源,溶于水后与 Cd^{2+} 溶液一起喷洒在土壤中拌匀后装盆(聚乙烯盆,直径 40 cm,深 20 cm),每盆装风干土 15.0 kg。外源 Cd^{2+} 添加量为 0.25、0.50、1.00、2.50、5.00、10.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (镉源为分析纯 $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$),以不添加 Cd^{2+} 为对照。每处理重复 3 次。选取籽粒饱满的大豆种子以 0.5% 次氯酸钠溶液浸泡消毒 30 min,用去离子水冲洗干净后于 2008 年 4 月 10 日播于土壤中,每盆播种 30 粒,待大豆植株第 2 片真叶全部展开时(播种后第 20 天),每盆保留 27 株苗(发芽最少的为 27 株/盆⁻¹)。根据土壤水分蒸发情况,不定期浇灌蒸馏水,以保持土壤持水量 70%。

1.3 测定方法

待大豆幼苗第 2 片真叶全部展开 1 周后(播种后第 27 天),每隔 7d 取大豆植株顶端全部展开的第 3 叶片

测定生理生化指标,直至大豆成熟。测定大豆整株生物量(鲜重)和大豆植株茎的基部至顶芽的高度表示植株高度(cm)。大豆植株 SOD 活性用南京建成生物工程研究所的 SOD 试剂盒测定,以每 mL 反应液 SOD 抑制率达到 50% 时所对应的 SOD 量为一个 SOD 活力单位(单位用 $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$ 表示);POD 活性用愈创木酚法测定,酶活性以每分钟吸光度 A_{470} 变化 0.01 为一个酶活性单位(单位用 $\text{U} \cdot (\text{min} \cdot \text{g})^{-1}$ 表示);MDA 含量用 TBA(硫代巴比妥酸)法测定(单位为 $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$);叶绿素含量用 95% 酒精浸提研磨,于分光光度计比色测定,计算总叶绿素含量(单位为 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)^[12]。

1.4 数据分析

采用 SigmaStat 3.0 Demo 软件进行统计分析,实验数据用“平均值 $\pm$ 标准差”表示,组间数据差异进行 t 检验。

2 结果与分析

2.1 镉胁迫对大豆植株生物量和生长高度的影响

从图 1 可知,低浓度 Cd^{2+} 胁迫对大豆植株生物量和植株高度均具有刺激效应,但随着 Cd^{2+} 浓度的增加转而抑制大豆植株生物量和高度,且浓度越高其抑制作用越明显。与对照相比,当 Cd^{2+} 浓度为 $0.50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,对大豆植株生物量和植株高度的刺激效应最大;当 Cd^{2+} 达到 $1.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 水平时,进入开花生长阶段(播种后 41d)的大豆植株高度的增长受到极显著抑制($P < 0.01$);当 Cd^{2+} 浓度达到 $2.50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 水平时,在整个生长期, Cd^{2+} 对大豆植株生物量都具有极显著的抑制效应($P < 0.01$),且随着浓度的增加其抑制作用逐渐加强。当 Cd^{2+} 浓度一定时,随着胁迫时间的延长其生物量和株高逐步增加,但在播种 55d 后,株高的增长极为缓慢;生物量和株高在高浓度 Cd^{2+} 胁迫下随时间增加的幅度明显小于低浓度随时间增加的幅度。统计分析表明, Cd^{2+} 浓度、胁迫时间以及二者之间的交互作用对大豆植株生物量和高度的影响极显著($P < 0.01$)。

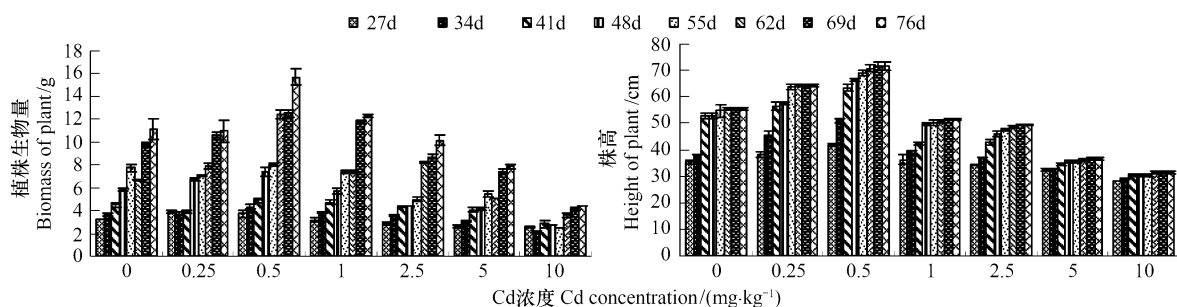


图 1 不同浓度 Cd 对大豆单株生物量与株高的影响

Fig. 1 Effects of different concentrations of Cd on biomass and height of *Glycine max* plants

2.2 镉胁迫对大豆叶绿素含量的影响

植物体内的叶绿素与光合作用及氮素营养有密切关系。图 2 表明,当外源 Cd^{2+} 胁迫维持一定水平时,在大豆的整个生长周期中,叶绿素含量在幼苗期(播种后 27—34d)相对较低,开花结荚期(播种后 34—62d)相对较高,成熟期(播种后 69—76d)呈逐步下降趋势。一定浓度的 Cd^{2+} 胁迫对大豆幼苗期叶片叶绿素合成具有刺激效应,当土壤外源 Cd^{2+} 浓度为 $1.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时其刺激效应最大,但随着 Cd^{2+} 浓度的进一步增加转而抑制叶绿素含量。这与黄运湘等^[10]“在一定浓度范围内随着 Cd^{2+} 胁迫浓度的增加,其对大豆幼苗叶绿素 a 和叶绿素 b 的合成具有一定的刺激效应”的研究结果相一致。对大豆开花结荚期、成熟期叶绿素合成刺激效应最大的 Cd^{2+} 浓度为 $5.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,明显高于对幼苗期叶绿素刺激效应最明显的浓度($1.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。

2.3 镉胁迫对大豆 SOD 活性的影响

SOD 可以清除细胞中多余的超氧根阴离子,减少膜系统的伤害^[13]。图 3 表明,大豆生长发育过程中,对照组大豆的 SOD 活性稳步提高,直到成熟后期 SOD 活性才急剧下降。在外源 Cd^{2+} 低于 $0.50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的浓度范围内,SOD 活性随时间的变化趋势与对照组相似;但当外源 Cd^{2+} 胁迫浓度达到 $1.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 水平时,大

豆 SOD 活性从开花结荚后期(55d)开始急剧降低。当 Cd^{2+} 胁迫时间一定时,大豆在发育至开花结荚阶段之前,SOD 活性随着 Cd^{2+} 浓度的增加而增加;在播种后 48d,当 Cd^{2+} 为 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 水平时,大豆 SOD 活性达到最大值,而后随 Cd^{2+} 水平提高有所下降但维持在较高水平。这表明大豆对 Cd^{2+} 的毒害作用是有一定耐受范围的。

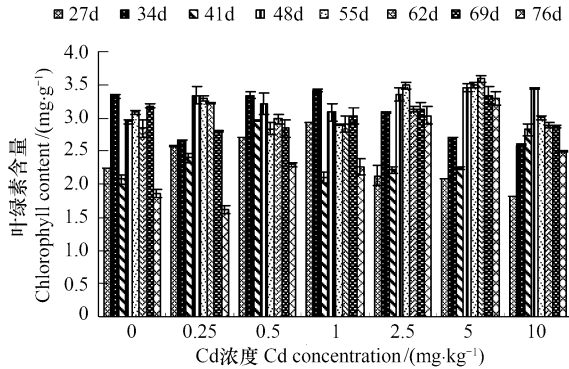


图2 不同浓度 Cd 对大豆叶绿素含量的影响

Fig. 2 Effects of different concentrations of Cd on chlorophyll contents of *Glycine max* plants

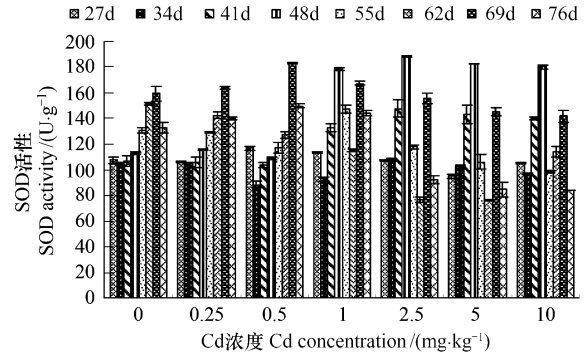


图3 不同浓度 Cd 对大豆 SOD 活性的影响

Fig. 3 Effects of different concentrations of Cd on SOD activities of *Glycine max* plant

2.4 镉胁迫对大豆 POD 活性的影响

过氧化物酶(POD)是植物体内重要的保护酶,可有效地清除代谢过程中产生的活性氧对脂膜的过氧化及其他伤害过程。POD 因在逆境胁迫中被激活的程度最大,且持续时间最长^[7],在逆境胁迫中起关键作用,故有建议用 POD 活性变化的水平作为反映污染胁迫的灵敏指标^[14]。从图 4 可知,与对照相比,当 Cd^{2+} 胁迫时间一定时,随着 Cd^{2+} 浓度的增加,POD 活性逐渐升高。当 Cd^{2+} 浓度一定时,在 Cd^{2+} 浓度低于 $0.50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,随着 Cd^{2+} 胁迫时间的增加,大豆整个生活周期 POD 的活性逐渐升高;当 Cd^{2+} 浓度达到 $1.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,大豆幼苗期 POD 活性随时间的延长急剧降低;但随着 Cd^{2+} 胁迫时间的增加,大豆花荚期和成熟期 POD 的活性又迅速并持续升高。播种 76d 后,当 Cd^{2+} 为 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 水平时,大豆叶片 POD 活性最高。统计学分析表明,POD 活性随外源 Cd^{2+} 浓度、胁迫时间的增加与对照组比较呈极显著相关($P < 0.01$)。

2.5 镉胁迫对大豆 MDA 含量的影响

丙二醛(MDA)是膜脂过氧化作用的产物,能与蛋白质、核酸、氨基酸等物质交联,形成不溶性化合物(脂褐素)沉积,从而干扰细胞正常的生命活动,影响植物的生长发育,故 MDA 常用来表示植物对逆境条件反应的强弱^[15]。本试验发现,当胁迫时间一定时,随着 Cd^{2+} 浓度的递增,大豆植株体内 MDA 累积量的变化规律不明显;当 Cd^{2+} 浓度一定时,大豆幼苗早期(第 27 天)MDA 含量较低,但随着胁迫时间的延长 MDA 含量急剧升高,在结荚期(播种后 48—55d)MDA 含量相对较高;播种 48d 后,当 Cd^{2+} 为 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 水平时,大豆 MDA 含量达到最大值,而后大豆成熟期 MDA 含量又逐步下降(图 5)。

3 讨论

随着工业生产、城市活动、农用物资的施用及矿泥、污水灌溉等加剧重金属输入土壤,重金属污染成为越

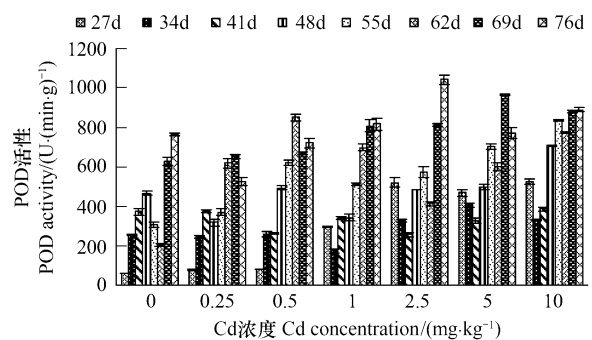


图4 不同浓度 Cd 对大豆 POD 活性的影响

Fig. 4 Effects of different concentrations of Cd on POD activities of *Glycine max* plant

来越严重的环境问题,重金属对农作物的毒性效应被广泛研究。镉是最具潜在危险性的金属污染物之一。Sanità 等研究发现,即使是低剂量的 Cd^{2+} 也可以导致叶绿体合成、光合作用等植物生理过程混乱^[16]。

低浓度 Cd^{2+} 对植物没有毒害作用,但高浓度对植物构成毒害作用^[17]; Ghorbanli 等人用水培法发现,随 Cd^{2+} 浓度的增加能抑制大豆的生物量^[18]。Ghorbanli 等人未能发现 Cd^{2+} 对大豆生物量的刺激效应,可能与其设置的初始 Cd^{2+} 浓度($2.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)偏高有关。本研究表明,低浓度的 Cd^{2+} 对大豆的生物量和株高的增长有刺激作用;高浓度 Cd^{2+} 能抑制大豆的生物量和株高的增长,且浓度越高抑制越明显。黄运湘等的研究

发现,低浓度、短时间的 Cd^{2+} 胁迫能刺激植株地上部分的生长素 (IAA) 和赤霉素 (GA) 的合成^[10]。研究表明,IAA 和 GA 作为植物体内重要的生长素类物质,能显著增加植物的生物量和植株高度^[19-21]。低浓度的 Cd^{2+} 胁迫能刺激大豆 IAA 和 GA 的合成,这可能是低浓度的 Cd^{2+} 对大豆的生物量和株高具有刺激效应的原因。生物量和株高统计学分析显示,当 $\text{Cd}^{2+} \geq 1.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 水平,大豆株高的抑制程度与外源 Cd^{2+} 浓度呈极显著的正相关($P < 0.01$);当 $\text{Cd}^{2+} \geq 2.50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 水平,大豆生物量的抑制程度与外源 Cd^{2+} 浓度呈极显著的正相关($P < 0.01$),这表明大豆生物量和株高的抑制程度对土壤 Cd^{2+} 污染程度具有一定的指示作用。本试验发现,大豆植株高度开始受到抑制的 Cd^{2+} 浓度为 $1.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,远低于大豆生物量的增长开始受到抑制的 Cd^{2+} 浓度($2.50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。这说明,大豆植株高度对 Cd^{2+} 的敏感性高于大豆生物量对 Cd^{2+} 的敏感性。

黄运湘等曾经报道^[10],在一定的低浓度范围内,外源 Cd^{2+} 对大豆幼苗叶绿素 a 和叶绿素 b 的合成具有一定的刺激效应。本研究发现, Cd^{2+} 胁迫能在一定程度上增加大豆整个生长期(幼苗期、开花结荚期、成熟期)的叶绿素含量,但随胁迫时间的延长大豆叶绿素含量先增加后降低(开花结荚期叶绿素含量最高),这表明长时间的 Cd^{2+} 胁迫已经对大豆植株造成了毒害,导致其叶绿素合成能力降低。有研究表明, Cd^{2+} 胁迫能破坏叶绿体的结构和降低叶绿体可溶性蛋白质含量、叶绿体 Mg^{2+} -ATPase 活性^[22-24]。这可能是长时间的 Cd^{2+} 胁迫最终导致大豆成熟期叶绿素含量下降的内在原因。本研究还发现, Cd^{2+} 对大豆开花结荚期、成熟期叶绿素含量刺激效应最大的浓度为 $5.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,明显高于对幼苗期刺激效应最大的浓度($1.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。这表明大豆幼苗期对镉的敏感性高于开花结荚期和成熟期。

超氧化物歧化酶(SOD)是存在于植物细胞中最重要的清除活性氧的酶类之一^[25]。因此,SOD 含量及活性水平的高低,对植物的抗逆能力有十分重要的意义。 Cd^{2+} 可以引起氧化胁迫,从而导致细胞内酶及非酶保护系统的抗氧化反应并使细胞发生膜脂过氧化^[26-27]。严重玲等^[28]研究发现,Cd 胁迫导致烟草 SOD 的活性先升后降。张颖等^[29]研究显示,随着 Cd 污染胁迫的加剧,红三叶幼苗 SOD 活性先升高后降低。本研究表明,当外源 Cd^{2+} 胁迫浓度一定时,大豆 SOD 的活性从幼苗期开始逐步增强,直至大豆成熟期 SOD 活性才显著下降。这表明,在 Cd^{2+} 胁迫下随着大豆植株的生长发育,大豆植株的抗逆性逐渐增强,在开花结荚期抗逆性最强,到成熟期时植株因长时间受到 Cd^{2+} 毒害,其抗逆性急剧降低。本研究还表明,一定浓度范围 Cd^{2+} 胁迫能刺激大豆 SOD 活性,激发大豆植株抵抗逆境的防御机制,且浓度越高刺激效应越大;但其刺激效应有一定浓度和时间限度,超出这个限度就会导致大豆 SOD 活性急剧降低。大豆成熟期 SOD 活性的急剧下降表明, Cd^{2+} 浓度和胁迫时间的交互作用形成的压力已经对大豆构成毒害作用。相关性分析表明, Cd^{2+} 浓度与 SOD 活性的相关系数在第 55 天(花荚期)为 $-0.781 (n=7, P < 0.05)$;在第 69、76 天(成熟期),分别为 $-0.779 (n=7, P < 0.05)$ 、 $-0.810 (n=7, P < 0.05)$ 。这表明,在大豆花荚期和成熟期,可以用 SOD 活性来反映土壤 Cd 污染程度。

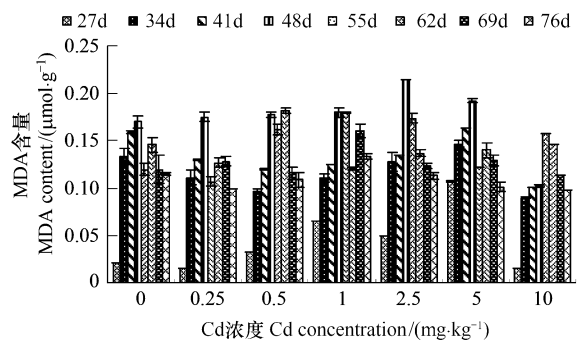


图5 不同浓度 Cd 对大豆 MDA 含量的影响

Fig.5 Effects of different concentrations of Cd on MDA contents of *Glycine max* plant

过氧化物酶(POD)是植物体内膜的保护酶之一,可以清除 H_2O_2 ,与呼吸作用、光合作用及生长素(IAA)的氧化有密切关系,在植物生长发育过程中,它的活性不断发生变化。因此,测量该酶的活性可反映植物体内的代谢变化状况及膜受伤害的程度。Fry^[30-31]在研究中分离到一种异联络氨酸,其中 POD 是催化络氨酸氧化偶联的关键酶,证明了细胞壁 POD 有促使细胞停止生长的作用。有研究表明,POD 具有吲哚乙酸(IAA)氧化酶功能^[31-32],POD 活性的剧烈增加可导致 IAA 含量下降^[33-34];POD 还可促进植物细胞壁中半纤维素、果胶质等发生交链,形成木质素,增加细胞壁木质化程度,阻止细胞伸长,从而抑制植株的生长。Balestrasse 等人用水培法的研究报道^[35],高浓度 Cd^{2+} ($200\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)导致大豆 POD 的活性下降并能诱导大豆结节衰老。本研究发现,当 Cd^{2+} 胁迫时间一定时,随着 Cd^{2+} 浓度的增加,POD 活性逐渐升高并维持在较高水平;当 Cd^{2+} 胁迫浓度一定时,随着胁迫时间的延长大豆整个生活周期的 POD 活性持续升高。本试验还发现,大豆 POD 活性随着 Cd^{2+} 浓度的增加逐渐升高,同时大豆植株高度和生物量的增加都受到显著抑制。这表明,大豆在受到外源 Cd^{2+} 胁迫时,其植株的保护酶 POD 活性得到加强,并激发植株自身的防御机制,能一定程度上抵制和清除因为 Cd^{2+} 胁迫而引起的对植物构成的脂膜的过氧化及其他伤害过程;但同时可能因为其促进植物细胞壁中半纤维素、果胶质等发生交链,形成木质素,阻止细胞伸长从而抑制了大豆植株的生长。相关性分析表明, Cd^{2+} 浓度与 POD 活性相关系数在第 27 天(幼苗期)为 $0.776(n=7, P<0.05)$;在第 48、55 天(花荚期),分别为 $0.843(n=7, P<0.05)$ 、 $0.853(n=7, P<0.05)$ 。这表明,在大豆幼苗期和花荚期,可以用 POD 活性来反映土壤 Cd 污染程度。

SOD、POD 是植物抗氧化酶系统中 2 种重要的酶,它们在活性氧自由基的清除、抑制膜脂过氧化等植物抗逆生理方面发挥重要作用。在 Cd 作用早期,SOD 和 POD 活性的增强表明,当胁迫使细胞中的活性氧自由基增多,膜脂过氧化加剧时,大豆植株通过增强抗氧化酶的活性应对 Cd 产生的毒害作用体现出的一定程度抵御重金属毒害的能力;而随着作用时间延长以及浓度加大,SOD 活性受到抑制,而 POD 活性持续升高,则表明可能由于 SOD 和 POD 活性对 Cd 胁迫应答的机理不同,导致它们各自的活性变化并不一致。

丙二醛(MDA)是膜脂过氧化作用的产物,常用来表示植物对逆境条件反应的强弱。本研究表明,大豆叶片 MDA 含量随 Cd^{2+} 胁迫时间的延长而急剧增加,但在成熟期有所下降。虽然在随 Cd^{2+} 胁迫下,大豆 SOD 和 POD 活性增强,其清除活性氧自由基的能力增强,但大豆叶片 MDA 含量却逐步增加。这表明 Cd^{2+} 胁迫导致大豆植株膜脂过氧化作用增强,SOD 和 POD 对植物膜系统保护作用是有其一定限度的。

4 结论

(1) Cd^{2+} 胁迫对大豆整个生活周期的叶绿素含量、POD 活性、SOD 活性及 MDA 含量的影响都是极显著的($P<0.01$)。

(2) 短时间、低浓度的 Cd^{2+} 胁迫对大豆植株的生长发育有刺激效应作用,高浓度、长时间的 Cd^{2+} 胁迫对大豆植株构成明显的毒害作用。大豆植株高度的增长开始受到抑制的 Cd^{2+} 浓度为 $1.00\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,远低于大豆生物量的增长开始受到抑制的 Cd^{2+} 浓度($2.50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$);大豆植株生物量和株高的抑制程度与外源 Cd^{2+} 浓度呈极显著的正相关($P<0.01$),对土壤 Cd^{2+} 污染程度具有指示作用;且大豆植株高度与其生物量相比,对 Cd^{2+} 污染程度较低的土壤具有更好的指示作用。而且大豆幼苗期叶绿素含量对镉的敏感性高于开花结荚期和成熟期的敏感性。

(3) 大豆 POD、SOD 活性的增加,能在一定程度上减轻 Cd^{2+} 胁迫引起的膜脂过氧化造成的伤害作用,但二者对植物膜系统保护作用有一定的限度;在 Cd^{2+} 达到 $2.5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 水平时,植物保护性酶系统活性的提高已经不足以弥补因 Cd^{2+} 胁迫对大豆植株造成的伤害。大豆幼苗期和花荚期叶片的 POD 活性对土壤 Cd 污染程度具有较好的指示作用;大豆花荚期和成熟期叶片的 SOD 活性对土壤 Cd 污染程度具有较好的指示作用。随着 Cd^{2+} 浓度的增加和胁迫时间的延长,大豆 MDA 含量逐步增加,表明细胞膜脂过氧化作用加强。

References:

- [1] Das P, Samantaray S, Rout G R. Studies on cadmium toxicity in plants: a review. *Environmental Pollution*, 1997, 98(1): 29-36.

- [2] Liu J, Liao B H, Zhou H, Zhang Y, Zeng M. Effects of Cd^{2+} on the Physiological and Biochemical Properties of *Glycine max* in flowering-podding phase. Ecology and Environmental Science, 2009, 18(1): 176-182.
- [3] Xiao Z L. Soil-environmental capacity and its applications. Beijing: Publisher of meteorologic, 1988.
- [4] Chen Z L, Mo D L, Qiu R L. Biological damage of soil cadmium (Cd) pollution and its control. Environmental Protection Science, 2001, 27(4): 37-39.
- [5] Zhou Q, Zhang H, Huang X H, Lu G C, Liang C T, Chen T H. Effects of La on the growth of kidney bean seedling under Cd stress. Environmental Science, 2003, 24(4): 48-53.
- [6] Song Y F, Xu H X, Ren L P, Song X Y, Gong P. Inhibition and eco-toxicity of heavy metals pollution on vegetable growth in soils. Journal of Agro-Environment Science, 2003, 22(1): 13-15.
- [7] Ma W L, Jin X D, Wang Z H. Effects of cadmium on seed germination, growth of seedling and antioxidant enzymes of rye and wheat. Journal of Agro-Environment Science, 2004, 23(1): 55-59.
- [8] Qiang W Y, Yang H, Chen T, An L Z, Wang X L. Effect of combination of cadmium and UV-B radiation on soybean growth. Chinese Journal of Applied Ecology, 2004, 15(4): 697-700.
- [9] Cui W, Zhang F Q, Jin Z X. Effects of treatment with Cd^{2+} on seedling growth of two beans. Journal of Agro-Environment Science, 2004, 23(1): 60-63.
- [10] Huang Y X, Liao B H, Xiao L T, Liu S C, Wang Z K. Effects of Cd^{2+} on seedling growth and phytohormone contents of *Glycine max*. Environmental Science, 2006, 27(7): 1398-1401.
- [11] Lu R K. Soil and agricultural chemistry analysis. Beijing: China Agriculture Technology Press, 1999.
- [12] Shanghai institute of plant physiology. Modern plant physiology experimental guide. Beijing: Science Press, 1999.
- [13] Yu P Z, Liao B H, Song W C. Effects of simulated acid rain and soil Zn on protective enzyme activity in the leaves and roots of *Phaseolus vulgaris* L. Journal of Agro-Environment Science, 2004, 23(5): 917-920.
- [14] Zhang Y X, Cai T Y, Gerard Burkard. Research advances on the mechanisms of heavy metal tolerance in plants. Acta Botanica Sinica, 1999, 41(5): 453-457.
- [15] Yu P Z, Liao B H, Song W C, Liu H Y. Effects of simulated acid rain and soil Cd on physiological and biochemical characteristics of *brassica chinensis* and *Phaseolus vulgaris* L. Journal of Agro-Environment Science, 2004, 23(1): 43-46.
- [16] Sanità di Toppi L, Gabbriellini R. Response to cadmium in higher plants. Environment and Experimental Botany, 1999, 41(2): 105-130.
- [17] Zhang J B, Huang W N. Advances on physiological and ecological effects of cadmium on plants. Acta Ecologica Sinica, 2000, 20(3): 514-523.
- [18] Ghorbanli M, Hadad Kaveh S, Farzami Sepehr M. Effects of cadmium and gibberellin on growth and photosynthesis of *Glycine max*. Photosynthetica, 1999, 37(4): 627-631.
- [19] Cai G P, Guo Y H, Yao H, Chen S L, Zhou T S. Impacts of cycocel and gibberellin on the biomass and flavonoid production in *scutellaria baicalensis georgi*. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2008, 24(7): 213-215.
- [20] Mao L J, Lin W F. The application of auxine in agriculture. Journal of Hebei Agricultural Sciences, 2008, 12(2): 80-81.
- [21] Wang L, Huang S W, Wang Q Y, Zhu D F. Effects of auxin on senescence and protective enzyme activity in leaves of rice. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2008, (3): 80-81.
- [22] Yang D H. The effects of heavy metal on the structures and functions of photosynthetic membranes in higher plants. Chinese Bulletin of Botany, 1991, 8(3): 26-29.
- [23] Zhang Z A, Chen Z Y, Xu K Z. Effect of La on photosynthesis and active oxygen metabolism of soybean seedling under Cd stress. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2006, 28(2): 166-171.
- [24] Jiang W Z. Effects of heavy metals on ultrastructure of chloroplast. Guangxi Sciences, 1995, 2(2): 221-23.
- [25] Zhang F S. Environmental stress and plant nutrition. Beijing: China Agricultural University Press, 1993: 79.
- [26] Romero-Puertas M C, McCarthy I, Sandalio L M, Palma J M, Corpas F J, Gómez, del Río L A. Cadmium toxicity and oxidative metabolism of pea leaf peroxisomes. Free Radical Research, 1999, 31: 25-31.
- [27] Piqueras A, Olmos E, Martínez-solano J R, Hellín E. Cd-induced oxidative burst in tobacco BY-2 cells: time-course, subcellular location and antioxidant response. Free Radical Research, 1999, 31: 33-38.
- [28] Yan Z L, Hong Y T, Fu X Z, Fang C H, Lei J X, Shen Q. Effect of Cd, Pb stress on scavenging system of activated oxygen in leaves of tobacco. Acta Ecologica Sinica, 1997, 17(5): 488-492.
- [29] Zhang Y, Gao J H. Effects of Cd^{2+} stress on the seed germination and some physiological characteristics about seedlings of *Trifolium pratense*. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2007, 16(3): 57-59.
- [30] Fry S C. Isodityrosine, a new cross-linking amino acid from plant cell wall glycoprotein: identification, assay and chemical synthesis. Biochemical

Journal, 1982, 204: 449-456.

- [31] Fry S C. Isodityrosine, a diphenyl-ether cross-link in plant cell wall glycoprotein. *Methods in Enzymology*, 1984, 107: 388-397.
- [32] Jita P, Braha B P. A comparison of biochemical responses to oxidative and metal stress in seedlings of barley. *Hordeum Vulgare L Environmental Pollution*, 1998, 101: 99-105.
- [33] Zhu X Z, Dong B, Xie Y F, Bao L, Kong F X, Zhou J M. Effects of Al speciation on the antioxidant system in wheat. *Environmental Chemistry*, 20(2): 119-123.
- [34] Zhu X H, Xian Z. Relationship between the accumulation of IAA and the peroxidase activity in anthers. *Plant Physiology Communications*, 1996, 32(4): 254-257.
- [35] Balestrasse K B, Gallego S M, Tomaro M L. Cadmium-induced senescence in nodules of soybean (*Glycine max*). *Plant and Soil*, 2004, 262: 373-381.

参考文献:

- [2] 杨景辉. 土壤污染与防治. 北京: 科学出版社, 1995.
- [3] 刘俊, 廖柏寒, 周航, 张永, 曾敏. 镉胁迫对大豆花荚期生理生态的影响. *生态环境学报*, 2009, 18(1): 176-182.
- [4] 陈志良, 莫大伦, 仇荣亮. 镉污染对生物有机体的危害及防治对策. *环境保护科学*, 2001, 27(4): 37-39.
- [5] 周青, 张辉, 黄晓华, 陆政超, 梁婵娟, 陈天虹. 镉对镉胁迫下菜豆 (*Phaseolus vulgaris*) 幼苗生长的影响. *环境科学*, 2003, 24(4): 48-53.
- [6] 宋玉芳, 许华夏, 任丽萍, 宋雪英, 龚平. 土壤重金属污染对蔬菜生长的抑制作用及其生态毒性. *农业环境科学学报*, 2003, 22(1): 13-15.
- [7] 马文丽, 金小弟, 王转花. 镉处理对乌麦种子萌发幼苗生长及抗氧化酶的影响. *农业环境科学学报*, 2004, 23(1): 55-59.
- [8] 强维亚, 杨晖, 陈拓, 安黎哲, 王勋陵. 镉和增强紫外线-B 辐射复合作用对大豆生长的影响. *应用生态学报*, 2004, 15(4): 697-700.
- [9] 崔玮, 张芬琴, 金自学. Cd^{2+} 处理对两种豆科作物幼苗生长的影响. *农业环境科学学报*, 2004, 23(1): 60-63.
- [10] 黄运湘, 廖柏寒, 肖浪涛, 刘素纯, 王志坤. 镉处理对大豆幼苗生长及激素含量的影响. *环境科学*, 2006, 27(7): 1398-1401.
- [11] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 1999.
- [12] 中国科学院上海植物生理研究所. 现代植物生理学实验指南. 北京: 科学出版社, 1999.
- [13] 余苹中, 廖柏寒, 宋稳成. 模拟酸雨和 Zn 对四季豆根与叶酶活性的影响. *农业环境科学学报*, 2004, 23(5): 917-920.
- [14] 张玉秀, 柴团耀, Gerard Burkard. 植物耐重金属机理研究进展. *植物学报*, 1999, 41(5): 453-457.
- [15] 余苹中, 廖柏寒, 宋稳成, 刘红玉. 模拟酸雨和 Cd 对小白菜、四季豆生理生化特性的影响. *农业环境科学学报*, 2004, 23(1): 43-46.
- [17] 张金彪, 黄维南. 镉对植物的生理生态效应的研究进展. *生态学报*, 2000, 20(3): 514-523.
- [19] 蔡葛平, 郭燕红, 姚辉, 陈士林, 周铜水. 矮壮素和赤霉素对黄芩生物量及根中黄酮类成分产量的影响. *中国农学通报*, 2008, 24(7): 213-215.
- [20] 毛丽君, 林位夫. 植物生长素在农业中的应用. *河北农业科学*, 2008, 12(2): 80-81.
- [21] 王玲, 黄世文, 王全永, 朱德峰. 植物生长素对水稻叶片衰老及抗氧化酶活性的影响. *浙江农业科学*, 2008, (3): 310-313.
- [22] 杨丹慧. 重金属离子对高等植物光合膜结构与功能的影响. *植物学通报*, 1991, 8(3): 26-29.
- [23] 张治安, 陈展宇, 徐克章. 镉对镉胁迫下大豆幼苗光合作用和活性氧代谢的影响. *中国油料作物学报*, 2006, 28(2): 166-171.
- [24] 蒋文智. 重金属镉对叶绿体超微结构的影响. *广西科学*, 1995, 2(2): 21-23.
- [25] 张福锁. 环境胁迫与植物营养. 北京: 中国农业大学出版社, 1993.
- [28] 严重玲, 洪业汤, 付舜珍, 方重华, 雪基祥, 沈芹. Cd, Pb 胁迫对烟草叶片中活性氧清除系统的影响. *生态学报*, 1997, 17(5): 488-492.
- [29] 张颖, 高景慧. 镉胁迫对红三叶种子萌发及幼苗生理特性的影响. *西北农业学报*, 2007, 16(3): 57-59.
- [33] 朱雪竹, 董斌, 谢翼飞, 包亮, 孔繁翔, 蒋新, 周健明. 不同形态铝对小麦抗氧化系统的影响. *环境化学*, 2001, 20(2): 119-123.
- [34] 朱晓红, 显祖. 花药中生长素的积累与过氧化物酶活性的关系. *植物生理学通讯*, 1996, 32(4): 254-257.