

# 绿豆琥珀酸脱氢酶基因生物信息学分析及其在镉胁迫下的表达特性变化

吴萍民<sup>1</sup>, 程 斌<sup>2</sup>, 李师翁<sup>3,①</sup>

(1. 甘肃中医药大学 教学实验实训中心, 甘肃 兰州 730000; 2. 兰州兰生血液制品有限公司, 甘肃 兰州 730030;  
3. 兰州交通大学环境与市政工程学院, 甘肃 兰州 730070)

**摘要:** 基于绿豆 [*Vigna radiata* (Linn.) R. Wilczek] 基因组注释文件鉴定琥珀酸脱氢酶 (SDH) 基因, 并采用生物信息学方法分析了绿豆 SDH 结构及其编码的蛋白质序列特性; 分别运用转录组学和酶学方法分析了镉 (Cd) 胁迫下绿豆幼苗根、茎和叶中 SDH 表达量和 SDH 活性的变化。结果显示: 绿豆基因组含有 12 个 SDH 基因, 分别含 0~15 个内含子和 1~16 个外显子。蛋白质序列分析结果显示: VrSDH1.1 和 VrSDH1.2 各含 7 个 motif, VrSDH2 含 3 个 motif, VrSDH7.1 和 VrSDH7.2 各含 1 个 motif, 其余 VrSDH 不含 motif。VrSDH 的相对分子质量为 10 789~69 452, 理论等电点为 pI 4.89 至 pI 10.96, 氨基酸残基数为 94~631, 亲水性系数为 -1.094~0.035, 且包含多种结构域。转录组及酶活性分析结果表明: 12 个 VrSDH 中 VrSDHAF4.2 和 VrSDH7.2 在绿豆幼苗根、茎、叶中不表达, 其余 10 个 VrSDH 的表达量呈现从根到茎再到叶逐渐递减的趋势; Cd 胁迫下, 10 个 VrSDH 中多数基因表达量高于对照组, 且 SDH 活性也总体高于对照组。综上, 绿豆幼苗中 VrSDH 参与了 Cd 胁迫的响应过程。

**关键词:** 绿豆; 琥珀酸脱氢酶 (SDH) 基因; 转录组; 镉 (Cd) 胁迫; 表达特征

中图分类号: Q78; Q948.113; S522 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2025)05-0058-11  
DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2025.05.06

**Bioinformatics analysis on succinate dehydrogenase genes in *Vigna radiata* and changes of their expression characteristics under cadmium stress** WU Pingmin<sup>1</sup>, CHENG Bin<sup>2</sup>, LI Shiweng<sup>3,①</sup>  
(1. Teaching Experiment Training Center, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; 2. Lanzhou Lansheng Blood Products Co. Ltd., Lanzhou 730030, China; 3. School of Environmental and Municipal Engineering, Lanzhou Jiaotong University, Lanzhou 730070, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2025, 34(5): 58-68

**Abstract:** Succinate dehydrogenase (SDH) genes were identified based on the genome annotation file of *Vigna radiata* (Linn.) R. Wilczek, and the structures of SDHs of *V. radiata* and the characteristics of their encoded protein sequences were analyzed by using bioinformatics method; the changes of expression levels of SDHs and SDH activities in roots, stems, and leaves of *V. radiata* seedlings under cadmium (Cd) stress were analyzed by using transcriptomics and enzymology methods. The results show that there are 12 SDHs in *V. radiata* genome, which contain 0-15 introns and 1-16 exons. The analysis result of protein sequence reveals that VrSDH1.1 and VrSDH1.2 each contain seven motifs, VrSDH2 contains three motifs, VrSDH7.1 and VrSDH7.2 each contain one motif, and the other VrSDHs lack motifs. The relative molecular masses of VrSDHs are 10 789-69 452, the theoretical isoelectric points are pI 4.89 to pI 10.96, the number of amino acid residues are 94-631, the hydrophilic coefficients are -1.094-0.035, and VrSDHs contain multiple domains. The analysis results of transcriptome and enzyme activities

收稿日期: 2024-12-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(31760110)

作者简介: 吴萍民(1987—), 女, 甘肃靖远人, 博士, 高级实验师, 主要从事植物分子生物学方面的研究。

①通信作者 E-mail: lishweng@mail.lzjtu.cn

引用格式: 吴萍民, 程 斌, 李师翁. 绿豆琥珀酸脱氢酶基因生物信息学分析及其在镉胁迫下的表达特性变化[J]. 植物资源与环境学报, 2025, 34(5): 58-68.

show that among the 12 *VrSDHs*, *VrSDHAF4.2* and *VrSDH7.2* are not expressed in the roots, stems, or leaves of *V. radiata* seedlings, while the expression levels of the other 10 *VrSDHs* show a decreasing trend from roots to stems and finally to leaves. Under Cd stress, the expression levels of most of the 10 *VrSDHs* are higher than those in the control group, and the SDH activities are also generally higher than those of the control group. In summary, *VrSDHs* are involved in the response process of *V. radiata* seedlings to Cd stress.

**Key words:** *Vigna radiata* (Linn.) R. Wilczek; succinate dehydrogenase (SDH) gene; transcriptome; cadmium (Cd) stress; expression characteristics

琥珀酸脱氢酶(succinate dehydrogenase, SDH)作为线粒体内膜的结合酶,在细胞的能量代谢和活性氧(ROS)生成中扮演着至关重要的角色。SDH 不仅是电子传递链复合物 II 上的核心组成部分,负责催化线粒体基质内琥珀酸向延胡索酸的氧化转变,而且通过向泛醌传递电子,实现了三羧酸循环与电子传递链之间的桥梁作用,这一功能在细菌及真核细胞线粒体的能量转换过程中具有核心意义<sup>[1-2]</sup>。在细菌、真菌和动物线粒体中,SDH 是由 4 个经典亚基——SDH1、SDH2、SDH3 和 SDH4 组成的高度保守的蛋白复合体。但植物中 SDH 的结构更为复杂,除上述 4 个经典亚基外,已确定存在 SDH5、SDH6、SDH7 和 SDH8 4 个附加亚基(值得注意的是,SDH8 的编码基因可能并不普遍存在于所有被子植物中),这些附加亚基的存在预示着 SDH 在植物体内可能执行着更为多样化的功能<sup>[3]</sup>。但目前与 SDH 相关的研究主要集中在动物及其抑制剂抑菌、抗菌等方面<sup>[4-5]</sup>。在植物中,有限的研究发现 SDH 可能与植物的防御反应有一定关系。如 Jardim-Messeder 等<sup>[6]</sup>认为,SDH 可作为复合物 I 和复合物 III 产生超氧化物的间接调制器影响线粒体中 ROS 的生成,进而参与调节植物的发育和应激反应。100 mmol · L<sup>-1</sup> NaCl 胁迫下,水稻(*Oryza sativa* Linn.)品种‘MTU 1010’根和地上部分的 SDH 活性显著降低,降幅分别为 40% 和 33%;水稻品种‘Nonabokra’根和地上部分 SDH 活性显著升高,增幅分别为 33% 和 30%<sup>[7]</sup>。花生(*Arachis hypogaea* Linn.)在适应渗透胁迫时,根系 SDH 活性随着渗透势提高呈现降低趋势<sup>[8]</sup>。甘薯[*Dioscorea esculenta* (Lour.) Burkill]在低温(4 °C)胁迫时,SDH 活性也受到了抑制,并且低温胁迫使 SDH 基因的总转录水平呈现先增后降的趋势<sup>[9]</sup>。同时,植物中的 SDH 复合物还影响细胞周期以及气孔开放,并与包括水杨酸和一氧化氮在内的某些信号分子的信号传导路径存在相互作用,共同调节植物信号转导<sup>[10-11]</sup>。但豆科

(Fabaceae)植物 SDH 基因的特性和功能,特别是在重金属胁迫响应中的功能,目前尚未见报道。

土壤重金属污染,特别是镉(Cd)污染,对环境构成严重威胁。土壤重金属污染不仅影响作物的正常生长和产量,还可能通过食物链累积,对人类和动物的健康构成潜在风险。在这一背景下,一些植物因其独特的重金属富集机制和耐受特性备受关注<sup>[12]</sup>。其中,豆科植物能通过根瘤菌共生体系分泌有机酸和特异性金属螯合蛋白促使土壤中重金属发生形态转化,从而降低重金属对土壤的毒副作用<sup>[13-14]</sup>。但值得注意的是,作为人类直接食用的豆科作物,其重金属积累特性存在双重效应:一方面,过度的重金属吸收将存在食用安全隐患;另一方面,适度的耐性机制可保障作物在轻度污染土壤中的正常生长。因此,针对豆科作物的研究,应聚焦于解析其 Cd 耐受机制、筛选低积累种质,在确保食品安全的前提下实现污染农田的可持续利用。

绿豆[*Vigna radiata* (Linn.) R. Wilczek]不仅是重要的豆科作物,更是全球约 5 亿人口的主要植物蛋白来源<sup>[15]</sup>。Lin 等<sup>[16]</sup>认为,豆类可以作为低积累 Cd 植物在污染农田中种植而保持相对稳定的产量。但赵亚萍等<sup>[17]</sup>的研究结果显示:在 Cd 污染农田中,不同绿豆品种籽粒 Cd 含量存在明显差异(0.274~0.601 mg · kg<sup>-1</sup>),但均超出国家食品安全限值(0.2 mg · kg<sup>-1</sup>)。这既揭示了通过遗传改良实现“低积累-高耐性”协同提升的可能性,也凸显出筛选安全种质的紧迫性。SDH 家族成员在植物中具有调控逆境响应和离子跨膜转运的双重作用<sup>[6-9]</sup>,这为解析绿豆 Cd 耐受与积累的分子开关提供了新的切入点。为了进一步阐明绿豆对 Cd 胁迫的分子响应机制,挖掘绿豆中 SDH 家族成员在调控绿豆抗 Cd 胁迫中的作用。作者基于之前的研究成果<sup>[18]</sup>,采用基因组学、转录组学和酶学分析手段,鉴定并分析了 SDH 及其编码的氨基酸序列特征,还比较了正常和 Cd 胁迫条件下绿豆不

同组织中 *SDH* 的表达模式及 *SDH* 活性, 以期为深入探索 *SDH* 的生物学功能及开发应用积累基础资料。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

供试绿豆种子由甘肃省农业科学院提供。将绿豆种子用自来水冲洗干净后, 用体积分数 75% 乙醇浸泡 15 min, 再用无菌水清洗, 随后置于  $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$  保温箱中, 用无菌水浸种 24 h。将种子播种于装有珍珠岩和蛭石(体积比 1:1)混合基质的育苗盘(长 45 cm、宽 24 cm、高 7 cm)中, 每盘分为 15 个育苗格, 每个育苗格中播种 20 粒, 置于温度  $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、光照时间  $14\text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ 、光照强度  $0.1\text{ mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  的培养箱中培养 5 d。

实验分为对照组和 Cd 处理组, 对照组浇灌 Hoagland 营养液<sup>[19]</sup>, Cd 处理组浇灌含  $100\text{ }\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{CdCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ <sup>[20]</sup> 的 Hoagland 营养液, 每格浇灌 70 mL, 于处理第 5 天每格补充等量相应营养液。每组 3 个生物学重复。分别于处理第 1、第 5、第 9 天采集幼苗根、茎和叶, 保存于  $-80^\circ\text{C}$  用于总 RNA 提取; 分别于处理第 1、第 3、第 5、第 7、第 9 天采集幼苗根、茎和叶用于 *SDH* 活性测定。

### 1.2 方法

**1.2.1 绿豆 *SDH* 的鉴定及特征分析** 根据程斌等<sup>[21]</sup>建立的方法体系, 从 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 数据库中下载绿豆全基因组及注释文件信息, 筛选绿豆已注释的 *SDH* 基因, 从 Ensembl Plants (<http://plants.ensembl.org/index.html>) 数据库中获取拟南芥 [*Arabidopsis thaliana* (Linn.) Heynh.] *SDH* 基因序列, 从 NCBI 数据库中获取大豆 [*Glycine max* (Linn.) Merr.] *SDH* 家族成员的相关信息。采用文献<sup>[21]</sup>方法体系对 *SDH* 编码的蛋白质进行了序列分析、理化性质解析、结构域预测以及系统发育树构建 [neighbor-joining (NJ) 法]。在此基础上, 最后运用在线工具 iTOL (<https://itol.embl.de/>) 及线下工具 TBtools 对结果进行可视化。

**1.2.2 转录组测序** 参考文献<sup>[22-23]</sup>进行总 RNA 提取及 cDNA 文库的制备, 使用 FlaiPure Plant Total RNA Extraction Kit [生工生物工程(上海)股份有限公司] 提取总 RNA, 并使用 Truseq<sup>TM</sup> RNA 样品制备试剂盒和 Truseq<sup>TM</sup> DNA 文库制备试剂盒(美国 Illumina 公

司)反转录成 cDNA。文库的测序由上海美吉生物医药科技有限公司完成。参考文献<sup>[22]</sup>的方法对测序结果和数据挖掘分析。利用 RSEM 软件对基因的表达水平进行定量分析, 表达量以每百万映射读数中每千碱基外显子模型的转录本数 (TPM) 表示, 采用  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  法<sup>[24]</sup> 处理结果并以  $\log_2$  TPM 值绘制基因表达谱。使用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 技术对 9 个目标基因和 1 个内参基因进行检测, 结果与转录组数据高度相符 ( $r^2 = 0.925, P \leq 0.01$ )<sup>[22]</sup>。

**1.2.3 *SDH* 活性分析** 参照 Saha 等<sup>[25]</sup>的方法测定 *SDH* 活性。精确称取 1.0 g 样本于预冷研钵中, 加入 2 mL  $4\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  Tris-HCl 提取缓冲液 (pH 7.5, 含  $0.19\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  蔗糖) 研磨成匀浆, 于  $4^\circ\text{C}$ 、 $10\text{ 000 r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 15 min, 收集上清液。试管中加入  $0.05\text{ mL } 0.19\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  蔗糖、 $0.05\text{ mL } 0.1\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  Tris-HCl、 $0.05\text{ mL } 10\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  叠氮化钠、 $0.05\text{ mL } 8\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  碘硝基氯化四氮唑蓝、 $0.1\text{ mL } 0.5\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  琥珀酸钠、 $0.1\text{ mL}$  蒸馏水和  $0.1\text{ mL}$  上清液, 将试管置于  $30^\circ\text{C}$  水浴 10 min, 启动酶促反应。水浴结束后加入  $1.0\text{ mL}$  体积分数 95% 乙醇冰浴 15 min 终止反应。最后于常温、 $8\text{ 000 r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min, 收集上清液, 于波长 458 nm 下测定吸光度 ( $A_{458}$ ), 计算 *SDH* 活性 ( $A_{SDH}$ ), 计算公式为  $A_{SDH} = A_{458} \times V_t / (0.1 \times t \times m \times V)$ 。式中,  $V_t$  为样品提取液总体积,  $t$  为反应时间,  $m$  为样品鲜质量,  $V$  为测定时所取样品提取液体积。每个样品重复测定 3 次。

### 1.3 数据统计和分析

利用 EXCEL 2021 软件进行数据统计, 利用 IBM SPSS 25.0 软件对实验数据进行独立样本  $t$  检验 ( $P < 0.05$ ), 利用 Origin 2022 软件绘图。

## 2 结果和分析

### 2.1 绿豆 *SDH* 基因的鉴定和编码蛋白质性质

**2.1.1 绿豆 *SDH* 基因鉴定和结构特征** 根据对绿豆基因组注释文件的检索和预测, 成功获得 12 个绿豆 *SDH* 基因, 依次命名为 *VrSDH1.1*、*VrSDH1.2*、*VrSDH2*、*VrSDHAF1*、*VrSDHAF2*、*VrSDHAF4.1*、*VrSDHAF4.2*、*VrSDH4*、*VrSDH5*、*VrSDH6*、*VrSDH7.1*、*VrSDH7.2*。

保守 motif 分析结果(图 1-A)显示: 绿豆中有 7 个 *SDH* 蛋白不含 motif; *VrSDH1.1* 和 *VrSDH1.2* 含有相似的 motif, 均不包含 motif 3、motif 4 和 motif 9;

VrSDH2 包含 motif 3、motif 4 和 motif 9; VrSDH7.1 和 VrSDH7.2 仅包含 motif 2。基因结构分析结果(图 1-B)显示:绿豆 SDH 基因中内含子和外显子数量存在差异。VrSDH1.1 和 VrSDH1.2 均包含 15 个内含子和

16 个外显子, VrSDHAF1、VrSDHAF4.1 及 VrSDHAF4.2 仅包含 1 个外显子, VrSDHAF2、VrSDH5、VrSDH7.1 及 VrSDH7.2 均包含 3 个内含子和 4 个外显子, 其余 VrSDH 含 1~4 个内含子、2~5 个外显子不等。

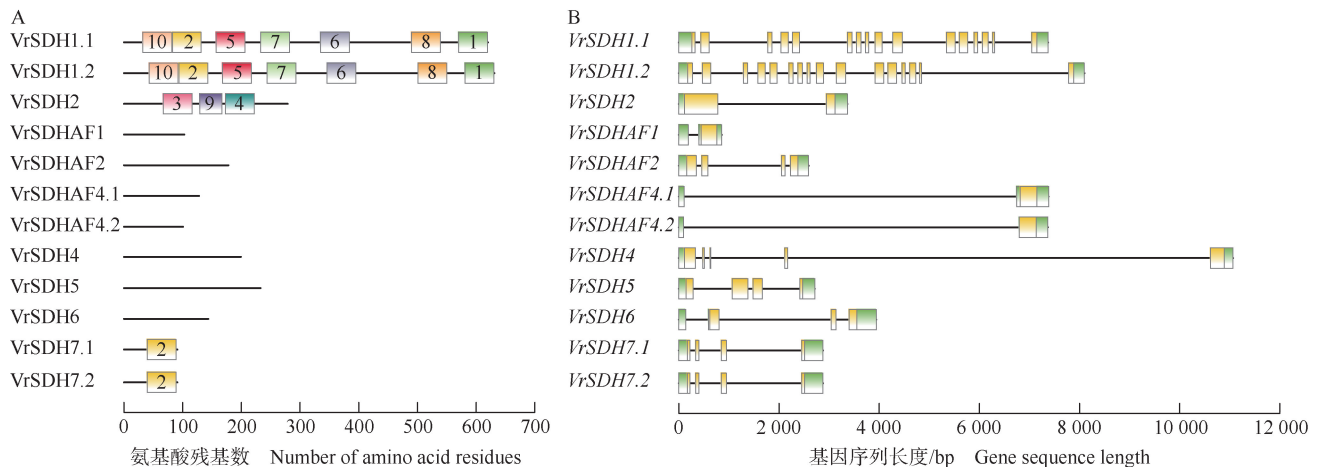


图 A 中不同颜色框分别表示不同 motif, 黑线表示未检测到 motif 的氨基酸序列 Different color boxes in figure A indicate different motifs, and the black lines indicate the amino acid sequences of undetected motif; 图 B 中绿色框、黄色框以及黄色框间的黑线分别表示非翻译区、外显子和内含子 The green boxes, yellow boxes, and black lines between the yellow boxes in figure B indicate untranslated regions, exons, and introns, respectively.

图 1 绿豆 SDH 蛋白的保守 motif(A) 和 SDH 基因结构(B) of *Vigna radiata* (Linn.) R. Wilczek

2.1.2 绿豆 SDH 蛋白的理化性质和结构域 绿豆 SDH 蛋白的理化性质见表 1。由表 1 可见: 12 个 VrSDH 的相对分子质量介于 10 789~69 452 之间, 其中 VrSDH1.2 的蛋白序列最长, 由 631 个氨基酸残基组成; VrSDH7.2 的蛋白序列最短, 由 94 个氨基酸残

基组成。12 个 VrSDH 的理论等电点介于 pI 4.89 至 pI 10.96 之间, 其中 VrSDH2、VrSDHAF1、VrSDHAF2、VrSDH4、VrSDH7.1 及 VrSDH7.2 的理论等电点均大于 pI 7, 为碱性蛋白, 其余 6 个 VrSDH 的理论等电点均小于 pI 7, 为酸性蛋白。除了 VrSDH4 的亲水性系数大于 0 之外, 其余 VrSDH 的亲水性系数均小于 0, 为亲水性蛋白。

表 1 绿豆 SDH 蛋白的理化性质 Table 1 Physicochemical properties of SDHs of *Vigna radiata* (Linn.) R. Wilczek

蛋白质 Protein	相对分子质量 Relative molecular mass	理论等电点 Theoretical isoelectric point	氨基酸残基数 Number of amino acid residues	亲水性系数 Hydrophilic coefficient
VrSDH1.1	68 342	pI 6.19	620	-0.382
VrSDH1.2	69 452	pI 6.30	631	-0.338
VrSDH2	31 423	pI 9.01	279	-0.438
VrSDHAF1	11 842	pI 10.96	103	-0.867
VrSDHAF2	20 386	pI 8.13	178	-0.639
VrSDHAF4.1	14 226	pI 5.04	128	-1.012
VrSDHAF4.2	12 320	pI 4.89	111	-1.094
VrSDH4	22 124	pI 10.05	201	0.035
VrSDH5	25 731	pI 6.97	232	-0.241
VrSDH6	16 291	pI 6.41	146	-0.305
VrSDH7.1	10 917	pI 10.08	95	-0.335
VrSDH7.2	10 789	pI 10.01	94	-0.297

绿豆 SDH 蛋白结构域见图 2。由图 2 可见: 绿豆 VrSDH1.1 和 VrSDH1.2 含有 PLN00128 结构域, VrSDH2 含有 PLN00129 结构域, VrSDHAF1 含有 Complex1\_LYR\_SDHAF1\_LYRM8 结构域, VrSDHAF2 含有 Sdh5 结构域, VrSDH4.1 和 VrSDH4.2 含有功能未知的 DUF1674 结构域, VrSDH4 含有 SQR\_QFR\_TM superfamily 结构域, VrSDH5 含有 SDH5\_plant superfamily 结构域, VrSDH6 含有 PLN02720 结构域, 而 VrSDH7.1 和 VrSDH7.2 不含结构域。

2.1.3 SDH 蛋白的系统发育分析 绿豆、拟南芥和大豆 SDH 蛋白的 NJ 系统发育树见图 3。结果显示: 3 种植物共 35 个 SDH 蛋白被分为 3 大分支, 其中, VrSDH4、VrSDH1.1、VrSDH1.2 与 3 个拟南芥 SDH 蛋

白及 3 个大豆 SDH 蛋白聚为分支 I, VrSDH6、VrSDH7.1、VrSDH7.2 与 5 个拟南芥 SDH 蛋白及 2 个

大豆 SDH 蛋白聚为分支 II, VrSDH2、VrSDHAF1、VrSDHAF2、VrSDHAF4.1、VrSDHAF4.2、VrSDH5 与拟南芥和大豆其他 SDH 蛋白聚为分支 III。VrSDH2 与 GmSDH2, VrSDHAF4.1、VrSDHAF4.2 与 GmSDHAF4, 以及 VrSDH1.1、VrSDH1.2 与 GmSDH1 分别先聚在一起,其余的 VrSDH 先与 AtSDH 聚在一起。

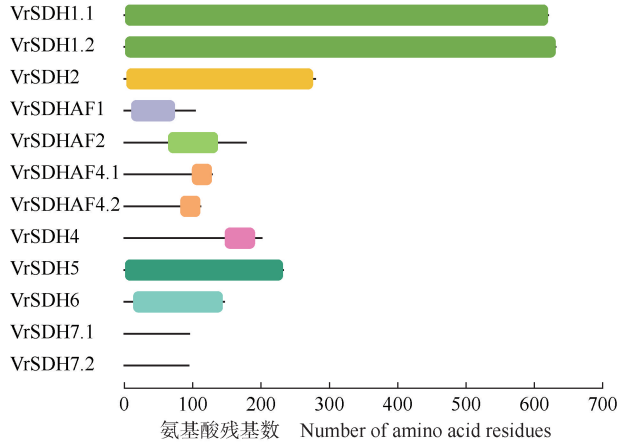


图 2 绿豆 SDH 蛋白结构域  
Fig. 2 Domains of SDHs of *Vigna radiata* (Linn.) R. Wilczek

### 2.2 绿豆幼苗 VrSDH 组织特异性表达分析

绿豆幼苗 VrSDH 家族中 VrSDHAF4.2 和 VrSDH 7.2 在根、茎、叶中均未表达,以 log<sub>2</sub> TPM 值为依据绘制其余 10 个 VrSDH 的组织特异性表达谱,结果(图 4)显示: VrSDH1.2、VrSDH2、VrSDHAF2、VrSDH4、VrSDH5、VrSDH6 和 VrSDH7.1 在 3 个组织中均有较高水平的表达,并且总体呈现从根到茎再到叶显著(P<0.05)降低的趋势。VrSDH1.1、VrSDHAF1、VrSDHAF4.1 的表达量低于其他 VrSDH,其中,叶中这 3 个基因的平均 TPM 值分别为 1.04、8.28、14.55,较根和茎中显著下降,降幅分别为 81.13%、79.73%、52.25%、51.29%以及 62.23%、54.04% (表 2)。此外,10 个 VrSDH 的表达量也因生长时间不同而异。如在茎中,培养 1 d 时 VrSDHAF2 的表达量最高(TPM 值为

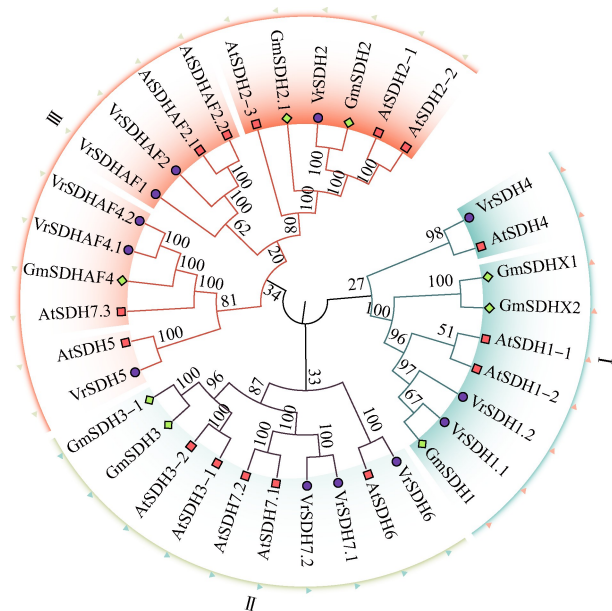


图 3 绿豆、拟南芥和大豆 SDH 蛋白的 NJ 系统发育树  
Fig. 3 NJ phylogenetic tree of SDHs of *Vigna radiata* (Linn.) R. Wilczek, *Arabidopsis thaliana* (Linn.) Heynh., and *Glycine max* (Linn.) Merr.

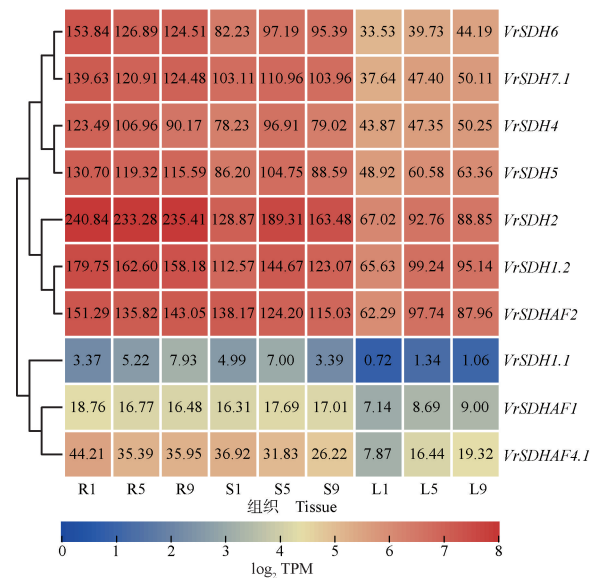


图 4 绿豆幼苗中 VrSDH 基因的组织特异性表达热图  
Fig. 4 Heat map of tissue-specific expression of VrSDHs in *Vigna radiata* (Linn.) R. Wilczek seedlings

表 2 绿豆幼苗不同组织中 *VrSDH* 基因的平均 TPM 值 ( $\bar{X} \pm SE$ )<sup>1)</sup>  
 Table 2 Mean TPM values of *VrSDHs* in different organs of *Vigna radiata* (Linn.) R. Wilczek seedlings ( $\bar{X} \pm SE$ )<sup>1)</sup>

基因 Gene	平均 TPM 值 Mean TPM value		
	根 Root	茎 Stem	叶 Leaf
<i>VrSDH1.1</i>	5.51±1.05a	5.13±1.04a	1.04±0.17b
<i>VrSDH1.2</i>	166.85±6.57a	126.77±7.08b	86.67±4.44c
<i>VrSDH2</i>	236.51±2.25a	160.55±8.03b	82.88±3.01c
<i>VrSDHAF1</i>	17.34±0.71a	17.00±0.39a	8.28±0.57b
<i>VrSDHAF2</i>	143.39±4.46a	125.80±6.72a	82.66±7.57b
<i>VrSDHAF4.1</i>	38.52±2.85a	31.66±3.09a	14.55±1.43b
<i>VrSDH4</i>	106.87±6.02a	84.72±3.69a	47.15±1.84b
<i>VrSDH5</i>	121.87±4.54a	93.18±5.82b	57.62±2.42c
<i>VrSDH6</i>	135.08±4.71a	91.60±3.08b	39.15±1.02c
<i>VrSDH7.1</i>	128.34±5.12a	106.01±2.48b	45.05±2.78c

<sup>1)</sup> 同行中不同小写字母表示基因平均 TPM 值在不同组织间差异显著 ( $P < 0.05$ ) Different lowercases in the same row indicate the significant differences ( $P < 0.05$ ) in mean TPM values of genes between different tissues.

138.17), 培养 5 和 9 d 时 *VrSDH2* 的表达量均最高 (TPM 值分别为 189.31 和 163.48); 在叶中, 培养 1 d 时 *VrSDH2* 的表达量最高 (TPM 值为 67.02), 培养 5 和 9 d 时 *VrSDH1.2* 的表达量均最高 (TPM 值分别为 99.24 和 95.14)。说明 *VrSDH* 的表达具有组织特异性和时间依赖性, 且在根和茎中的表达量高于叶。

### 2.3 Cd 胁迫下绿豆幼苗 *VrSDH* 表达量分析

Cd 胁迫下, 除 *VrSDHAF4.2* 和 *VrSDH7.2* 在绿豆幼苗根、茎、叶均未表达外, 其余 10 个 *VrSDH* 在绿豆幼苗根、茎和叶中的 TPM 值分别见表 3、表 4 和表 5。结果显示: 与对照相比, Cd 处理 1、5、9 d 根中表达显著 ( $P < 0.05$ ) 上调的 *VrSDH* 分别有 3、1、1 个, 显著下

调的 *VrSDH* 分别有 1、4、2 个; 茎中显著上调的 *VrSDH* 分别有 9、7、7 个, 仅 Cd 处理 9 d 的 *VrSDH2* 显著下调; 叶中显著上调的 *VrSDH* 分别有 1、4、1 个, 无显著下调的 *VrSDH*。可见 Cd 胁迫条件下 *VrSDH* 的表达模式在根、茎、叶中表现出组织差异, 其中根中显著下调的 *VrSDH* 较多, 而茎和叶中显著上调的 *VrSDH* 较多。

在根中, Cd 处理 1、5、9 d, *VrSDH1.1* 的 TPM 值分别比对照组升高了 9.16、17.97、9.76 倍; Cd 处理 1 d, *VrSDH4* 和 *VrSDH6* 的 TPM 值分别比对照组升高了 16.39% 和 56.94%, 而 *VrSDHAF2* 的 TPM 值比对照组降低了 15.72%; Cd 处理 5 d, *VrSDH1.2*、*VrSDH2*、*VrSDH5* 和 *VrSDH7.1* 的 TPM 值分别比对照组降低了 49.20%、43.64%、31.22%、29.05%; Cd 处理 9 d, *VrSDH1.2* 和 *VrSDH2* 的 TPM 值分别比对照组降低了 35.75%、57.10%, 且差异均达到显著水平。整体而言, 绿豆幼苗根中多数 *VrSDH* 在 Cd 胁迫 1 d 时 TPM 值升高, 在 Cd 胁迫 5 d 时 TPM 值降低, 在 Cd 胁迫 9 d 时无明显变化趋势。

在茎中, Cd 处理 1、5、9 d, *VrSDH1.1*、*VrSDH1.2*、*VrSDHAF2*、*VrSDHAF4.1*、*VrSDH4*、*VrSDH5*、*VrSDH6* 的 TPM 值分别比对照组升高了 257.92%、40.17%、11.15%、32.71%、35.02%、35.75%、51.13%、775.29%、24.00%、11.84%、39.77%、23.21%、10.93%、59.42%, 及 1 501.18%、21.75%、17.37%、44.24%、44.56%、26.44%、56.22%; Cd 处理 1 d, *VrSDH2* 和 *VrSDH7.1* 的 TPM 值分别比对照组升高了 42.47% 和 14.83%; Cd

表 3 Cd 胁迫下绿豆幼苗根中 *VrSDH* 基因 TPM 值的变化 ( $\bar{X} \pm SE$ )<sup>1)</sup>  
 Table 3 Changes of TPM values of *VrSDHs* in roots of *Vigna radiata* (Linn.) R. Wilczek seedlings under Cd stress ( $\bar{X} \pm SE$ )<sup>1)</sup>

基因 Gene	处理 1 d 的 TPM 值		处理 5 d 的 TPM 值		处理 9 d 的 TPM 值	
	TPM value of treatment for 1 d		TPM value of treatment for 5 d		TPM value of treatment for 9 d	
	对照组 The control group	Cd 处理组 Cd treatment group	对照组 The control group	Cd 处理组 Cd treatment group	对照组 The control group	Cd 处理组 Cd treatment group
<i>VrSDH1.1</i>	3.37±1.15b	34.25±4.25a	5.22±1.01b	99.02±9.22a	7.93±3.28b	85.35±7.55a
<i>VrSDH1.2</i>	179.75±6.34a	192.13±12.19a	162.60±3.42a	82.61±13.52b	158.18±12.79a	101.63±12.52b
<i>VrSDH2</i>	240.84±11.57a	254.99±7.53a	233.28±3.95a	131.48±15.40b	235.41±12.28a	101.01±13.58b
<i>VrSDHAF1</i>	18.76±1.56a	23.04±2.97a	16.77±1.13a	18.11±1.92a	16.48±1.03a	17.44±0.52a
<i>VrSDHAF2</i>	151.29±3.00a	127.51±4.06b	135.82±1.86a	115.82±13.98a	143.05±1.04a	111.44±12.41a
<i>VrSDHAF4.1</i>	44.21±0.71a	47.73±1.42a	35.39±1.40a	45.85±5.70a	35.95±0.70a	41.80±3.35a
<i>VrSDH4</i>	123.49±5.32b	143.73±2.17a	106.96±9.72a	91.17±10.48a	90.17±11.47a	99.55±9.05a
<i>VrSDH5</i>	130.70±5.81a	146.16±1.78a	119.32±3.78a	82.07±7.97b	115.59±8.70a	91.80±8.27a
<i>VrSDH6</i>	153.84±11.13b	241.44±19.11a	126.89±2.06a	128.99±13.86a	124.51±7.97a	138.39±6.79a
<i>VrSDH7.1</i>	139.63±5.80a	133.94±7.02a	120.91±3.62a	85.79±7.35b	124.48±14.43a	92.62±6.77a

<sup>1)</sup> 同行中不同小写字母表示同一时间对照组与 Cd 处理组间的基因 TPM 值差异显著 ( $P < 0.05$ ) Different lowercases in the same row indicate the significant differences ( $P < 0.05$ ) in TPM values of genes between the control group and Cd treatment group at the same time.

表4 Cd胁迫下绿豆幼苗茎中 *VrSDH* 基因 TPM 值的变化 ( $\bar{X}\pm SE$ )<sup>1)</sup>  
Table 4 Changes of TPM values of *VrSDHs* in stems of *Vigna radiata* (Linn.) R. Wilczek seedlings under Cd stress ( $\bar{X}\pm SE$ )<sup>1)</sup>

基因 Gene	处理1 d的 TPM 值 TPM value of treatment for 1 d		处理5 d的 TPM 值 TPM value of treatment for 5 d		处理9 d的 TPM 值 TPM value of treatment for 9 d	
	对照组 The control group	Cd 处理组 Cd treatment group	对照组 The control group	Cd 处理组 Cd treatment group	对照组 The control group	Cd 处理组 Cd treatment group
	<i>VrSDH1.1</i>	4.99±0.53b	17.86±5.88a	7.00±0.80b	61.27±7.02a	3.39±0.13b
<i>VrSDH1.2</i>	112.57±2.68b	157.79±7.06a	144.67±2.08b	179.37±2.70a	123.07±2.60b	149.84±5.52a
<i>VrSDH2</i>	128.87±3.90b	183.60±10.42a	189.31±10.98a	200.42±3.13a	163.48±3.45a	131.95±5.26b
<i>VrSDHAF1</i>	16.31±1.62a	18.12±1.47a	17.69±0.93a	20.28±1.55a	17.01±0.76a	15.58±1.05a
<i>VrSDHAF2</i>	138.17±3.42b	153.58±3.23a	124.20±1.11b	138.90±7.35a	115.03±9.41b	135.01±5.23a
<i>VrSDHAF4.1</i>	36.92±0.80b	48.99±2.56a	31.83±0.37b	44.49±1.14a	26.22±0.49b	37.82±1.27a
<i>VrSDH4</i>	78.23±4.17b	105.63±7.63a	96.91±2.81b	119.40±5.50a	79.02±4.48b	114.23±1.05a
<i>VrSDH5</i>	86.20±2.60b	117.02±5.96a	104.75±2.04b	116.20±2.37a	88.59±2.78b	112.01±3.16a
<i>VrSDH6</i>	82.23±2.71b	124.27±15.90a	97.19±1.24b	154.94±8.56a	95.39±2.33b	149.02±3.55a
<i>VrSDH7.1</i>	103.11±3.09b	118.40±6.85a	110.96±4.69a	111.49±4.61a	103.96±2.22a	114.30±4.17a

<sup>1)</sup> 同行中不同小写字母表示同一时间对照组与 Cd 处理组间的基因 TPM 值差异显著 ( $P<0.05$ ) Different lowercases in the same row indicate the significant differences ( $P<0.05$ ) in TPM values of genes between the control group and Cd treatment group at the same time.

表5 Cd胁迫下绿豆幼苗叶中 *VrSDH* 基因 TPM 值的变化 ( $\bar{X}\pm SE$ )<sup>1)</sup>  
Table 5 Changes of TPM values of *VrSDHs* in leaves of *Vigna radiata* (Linn.) R. Wilczek seedlings under Cd stress ( $\bar{X}\pm SE$ )<sup>1)</sup>

基因 Gene	处理1 d的 TPM 值 TPM value of treatment for 1 d		处理5 d的 TPM 值 TPM value of treatment for 5 d		处理9 d的 TPM 值 TPM value of treatment for 9 d	
	对照组 The control group	Cd 处理组 Cd treatment group	对照组 The control group	Cd 处理组 Cd treatment group	对照组 The control group	Cd 处理组 Cd treatment group
	<i>VrSDH1.1</i>	0.72±0.10b	1.52±0.26a	1.34±0.11b	5.80±0.67a	1.06±0.15b
<i>VrSDH1.2</i>	65.63±1.03a	67.31±3.77a	99.24±7.12a	109.23±8.91a	95.14±6.31a	79.85±7.24a
<i>VrSDH2</i>	67.02±3.69a	61.21±4.34a	92.76±6.31a	113.06±8.14a	88.85±4.72a	79.95±8.83a
<i>VrSDHAF1</i>	7.14±1.17a	5.71±0.88a	8.69±1.86a	8.87±1.43a	9.00±1.29a	11.73±1.79a
<i>VrSDHAF2</i>	62.29±3.35a	71.61±4.81a	97.74±5.56b	156.90±10.55a	87.96±6.59a	111.40±15.85a
<i>VrSDHAF4.1</i>	7.87±0.37a	10.69±1.02a	16.44±2.24b	29.17±2.67a	19.32±3.09a	29.39±3.37a
<i>VrSDH4</i>	43.87±1.82a	41.46±2.22a	47.35±3.03a	57.51±5.32a	50.25±1.96a	50.25±4.11a
<i>VrSDH5</i>	48.92±3.46a	53.28±2.39a	60.58±6.73a	70.57±4.37a	63.36±3.45a	67.65±2.46a
<i>VrSDH6</i>	33.53±0.42a	38.28±0.59a	39.73±3.79b	51.84±1.86a	44.19±0.89a	49.67±3.03a
<i>VrSDH7.1</i>	37.64±1.91a	36.98±2.87a	47.40±4.72a	45.99±3.14a	50.11±4.19a	46.01±2.63a

<sup>1)</sup> 同行中不同小写字母表示同一时间对照组与 Cd 处理组间的基因 TPM 值差异显著 ( $P<0.05$ ) Different lowercases in the same row indicate the significant differences ( $P<0.05$ ) in TPM values of genes between the control group and Cd treatment group at the same time.

处理9 d, *VrSDH2* 的 TPM 值比对照组降低了19.29%, 且差异均达到显著水平。整体而言, 绿豆幼苗茎中多数 *VrSDH* 在 Cd 胁迫1、5、9 d 时 TPM 值升高。

在叶中, Cd 处理1、5、9 d, *VrSDH1.1* 的 TPM 值分别比对照组升高了1.11、3.33、2.82倍; Cd 处理5 d, *VrSDHAF2*、*VrSDHAF4.1* 和 *VrSDH6* 的 TPM 值分别比对照组升高了61.53%、77.44%和30.48%, 且差异均达到显著水平。整体而言, 绿豆幼苗叶中仅少数 *VrSDH* 基因在 Cd 胁迫时 TPM 值显著升高, 多数基因 TPM 值与对照组差异不显著。

## 2.4 Cd胁迫下绿豆幼苗 SDH 活性分析

Cd 胁迫下绿豆幼苗根、茎、叶中 SDH 活性的变

化见图5。结果显示: 对照组及 Cd 处理组绿豆幼苗根、茎、叶中 SDH 活性总体随处理时间的延长呈现先升后降的趋势, 并在处理5 d 达到最大值。具体而言, Cd 处理1、3、5、7 和9 d, 根中 SDH 活性分别较对照组升高了160.86%、257.32%、34.12%、63.96%和91.17%, 差异均达显著 ( $P<0.05$ ) 水平; Cd 处理5 和9 d, 茎中 SDH 活性分别较对照组升高了38.12%和396.88%, 差异均达显著水平; 叶中 SDH 活性仅在 Cd 处理5 d 显著升高, 较对照组升高了45.58%。与对照组相比, Cd 处理下绿豆幼苗根、茎、叶中 SDH 活性均有不同程度的升高, 其中根和茎中 SDH 活性的增幅整体高于叶。

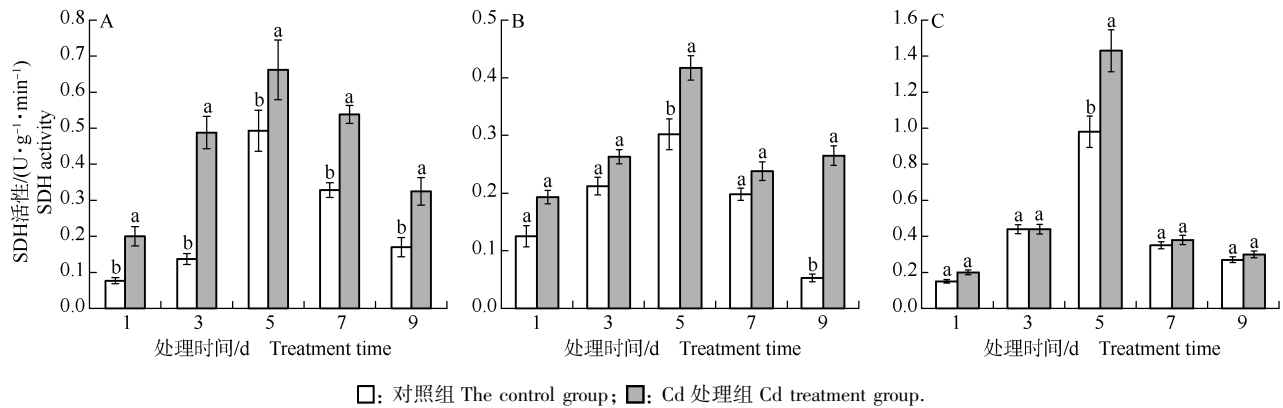


图5 Cd胁迫下绿豆幼苗根(A)、茎(B)、叶(C)中SDH活性的变化  
 柱子上方不同小写字母表示同一时间对照组与Cd处理组间差异显著( $P < 0.05$ ) Different lowercases above the bar indicate the significant differences ( $P < 0.05$ ) between the control group and Cd treatment group at the same time.

图5 Cd胁迫下绿豆幼苗根(A)、茎(B)、叶(C)中SDH活性的变化

Fig. 5 Changes of SDH activities in roots (A), stems (B), and leaves (C) of *Vigna radiata* (Linn.) R. Wilczek seedlings under Cd stress

### 3 讨 论

#### 3.1 绿豆SDH家族的基因结构、系统发育与表达特征分析

SDH基因因其独特的生物学功能而被广泛关注,研究者们已经鉴定了一些植物的SDH家族成员<sup>[26],[27]</sup><sup>20</sup>。绿豆SDH家族共有12个成员,其编码的氨基酸序列中motif具有一定的差异性,说明其生物学功能有所差异。研究者对棉花(*Gossypium hirsutum* Linn.)<sup>[26]</sup>和杨树(*Populus przewalskii* Maxim.)<sup>[27]</sup><sup>20-24</sup>SDH家族成员的分析结果也显示物种间及物种内SDH基因存在差异。植物内含子因其长度、数量及分布不同而为基因的进化提供依据<sup>[28]</sup>。基因结构分析结果显示:绿豆中不同SDH基因的内含子与外显子的数目和分布存在较大差异,这一现象反映不同SDH基因结构的特异性,这种差异可能是由基因的串联排列和相互作用共同所致<sup>[29]</sup>。

在蛋白质层面,绿豆中不同SDH蛋白的理化特征具有一定差异性,除了VrSDH4,其他VrSDH均为亲水性蛋白,这与张嘉懿<sup>[27]</sup><sup>22</sup>对杨树SDH蛋白的分析结果类似,均以亲水性蛋白为主。系统发育分析将绿豆、拟南芥和大豆的SDH蛋白聚为3个分支,其中绿豆和拟南芥的SDH蛋白在多个位点上紧密聚集(如VrSDH4与AtSDH4、VrSDH5与AtSDH5、VrSDH6与AtSDH6等),推测这些蛋白质可能承担着相似的功能。结构域分析结果显示在同一分支上的绿豆SDH蛋白具有相似的结构特征,如VrSDHAF4.1和

VrSDHAF4.2聚为一簇,均含有功能未知的DUF1674结构域,该结构域属于DUF家族成员,是一类功能尚未完全阐明的蛋白质,但近年来很多报道指出DUF家族成员在植物应对干旱<sup>[30]</sup>、盐碱<sup>[31]</sup>、高温<sup>[32]</sup>、高寒<sup>[33]</sup>等胁迫过程中发挥重要作用。VrSDHAF2含有Sdh5结构域,该结构域为SDH复合物亚基,是位于线粒体内膜SDH蛋白复合物的4个亚单位中2个跨膜亚单位之一<sup>[34-35]</sup>。VrSDH4含有SQR\_QFR\_TM superfamily结构域,该结构域属于硫醌氧化还原酶/醌还原酶跨膜超家族,参与电子传递过程,在氧化还原反应中发挥作用,并与能量代谢相关<sup>[36]</sup>。这些结构域可能在不同程度上影响着这些蛋白质的催化活性、亚细胞定位以及与其他分子的相互作用等生物学特性。

基因的表达模式能够为其功能研究提供重要依据。12个VrSDH中有10个在绿豆幼苗中有不同水平的表达,其中7个在绿豆幼苗根、茎、叶中均有较高水平的表达,并且总体呈现从根到茎再到叶显著( $P < 0.05$ )降低的趋势,这与SDH的功能存在关联。SDH1是SDH上最大的亚基,内含琥珀酸的特异性结合位点,该位点能够促使琥珀酸盐的电子被其共价结合的黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)所捕获;SDH2则携带3组铁硫簇结构,负责将电子从SDH1有效传递至植物线粒体复合物II的膜区域,并与SDH1共同构建线粒体复合物II的琥珀酸脱氢酶功能域<sup>[37]</sup>。亚基SDH6和SDH7在拟南芥、大豆和水稻中的生物化学特性已被明确界定,但详细的功能和机制仍待深入探究<sup>[38-40]</sup>。值得注意的是,当线粒体复合物II分解为

琥珀酸脱氢酶与膜结构域时,SDH5 亚基会被释放,并可能与 SDH6 及 SDH7 的亲水性区域协同作用,共同构成线粒体复合物 II 中 1 个具体功能尚未明确的附加结构域<sup>[41]</sup>。*VrSDH1.1*、*VrSDHAF1* 和 *VrSDHAF4.1* 的表达量均较低,而 *VrSDHAF4.2* 和 *VrSDH7.2* 则未表达,这可能与不同 *VrSDH* 具有不同的细胞特异表达模式或其亚基所主导的功能有关<sup>[6]</sup>。

### 3.2 Cd 胁迫对绿豆幼苗 *VrSDH* 表达模式的影响

Cd 胁迫下,绿豆幼苗中不同 *VrSDH* 的表达模式展现出组织特异性。如 Cd 胁迫 1~9 d,绿豆幼苗根中 *VrSDH1.1* 的表达量均显著 ( $P < 0.05$ ) 高于对照组,表明该基因可能在根部对 Cd 胁迫的响应中起到关键作用;而 *VrSDH1.2*、*VrSDH2*、*VrSDHAF2*、*VrSDH5* 和 *VrSDH7.1* 在绿豆幼苗根中的表达总体受到抑制。绿豆幼苗茎中除 *VrSDH2*、*VrSDHAF1* 在 Cd 处理 9 d 时的表达量低于对照组外, *VrSDH1.1*、*VrSDH1.2*、*VrSDHAF2*、*VrSDHAF4.1*、*VrSDH4*、*VrSDH5*、*VrSDH6* 和 *VrSDH7.1* 的表达量均高于对照组,这表明茎中的 *VrSDH* 可能以不同的方式响应 Cd 胁迫。Cd 胁迫下绿豆幼苗叶中 *VrSDH1.1*、*VrSDHAF2*、*VrSDHAF4.1*、*VrSDH5* 和 *VrSDH6* 相比对照组有较高水平的表达。Cd 胁迫也导致绿豆幼苗中不同 *VrSDH* 的表达模式展现出时间依赖性。如 Cd 处理 1 d,绿豆幼苗根中 *VrSDH1.1*、*VrSDH4* 和 *VrSDH6* 的表达显著上调,茎中多个 *VrSDH* 的表达也显著上调,而叶中仅 *VrSDH1.1* 显著上调;Cd 处理 5 d,根中 *VrSDH1.1* 的表达继续显著上调,茎中多个 *VrSDH* 的表达也显著上调,同时叶中 *VrSDHAF2* 等基因的表达也开始显著上调;Cd 处理 9 d,根和叶中仅 *VrSDH1.1* 的表达显著上调,而茎中仍有多个 *VrSDH* (包括 *VrSDH1.1*、*VrSDH1.2* 等) 的表达显著上调。秦智伟等<sup>[42]</sup>对霜霉威胁迫下黄瓜 (*Cucumis sativus* Linn.) *SDH* 表达量的分析结果显示:黄瓜 *SDH* 在果、茎、叶中的表达量存在组织差异性,推测可能是不同部位的代谢网络不同,对外界刺激的反应能力不同。Cd 胁迫下绿豆不同部位中 *SDH* 基因同样存在这样差异性的表达模式。这不仅揭示了 *SDH* 基因在植物基本代谢过程中的重要作用,还暗示了植物在面对外界胁迫时可能存在复杂的调控机制。

### 3.3 Cd 胁迫对绿豆幼苗 *SDH* 活性的影响

酶活性分析结果表明:Cd 胁迫改变了绿豆幼苗根、茎和叶中 *SDH* 活性,导致了 3 个组织中 *SDH* 活

性升高,其中与对照组相比,根中 *SDH* 活性在 Cd 处理 1~9 d 均显著 ( $P < 0.05$ ) 升高,茎中 *SDH* 活性在 Cd 处理 5 和 9 d 显著升高,叶中 *SDH* 活性仅在 Cd 处理 5 d 显著升高。进一步探究发现,绿豆幼苗叶中 *SDH* 活性的变化可能与其 *VrSDH* 的表达有关。Cd 处理 1 和 9 d 时,绿豆幼苗叶中仅 *VrSDH1.1* 的表达水平显著升高;而 Cd 处理 5 d 叶中 *SDH* 活性的升高则可能与 *VrSDH1.1*、*VrSDHAF2*、*VrSDHAF4.1* 和 *VrSDH6* 表达的显著上调有关。此外,与叶相比,绿豆幼苗根和茎中 *VrSDH* 的表达变化幅度更大,且 *SDH* 活性的变化趋势与之相似。说明绿豆幼苗根、茎、叶中的不同 *VrSDH* 对 Cd 胁迫的响应有所差异,进而导致 *SDH* 活性在不同组织和处理时间下发生相应变化。这一结果不仅进一步验证了转录组分析的结果,也有力证实了 *SDH* 基因参与绿豆对 Cd 胁迫的响应。*SDH* 在这一过程中主要催化三羧酸循环中的反应,当植物遭受严重胁迫致使呼吸代谢受到抑制时,*SDH* 活性的改变有助于植物更好地适应和应对胁迫环境<sup>[43-44]</sup>,这一作用也在大豆<sup>[45]</sup>、黄瓜<sup>[46]</sup>和光叶百脉根 [*Lotus japonicus* (Regel) K. Larsen]<sup>[47]</sup> 等植物中得到了证实。

### 3.4 绿豆 *VrSDH* 表达与酶活性变化的关联机制探讨

从酶活性与基因表达量的相关性来看,在设定的 Cd 处理 1、5 和 9 d 3 个时间点上,二者变化并非完全同步。造成这种差异的原因源于基因表达调控的复杂性,基因表达从转录到最终形成有活性的酶,涉及转录后修饰、蛋白质翻译及翻译后修饰等环节。在绿豆应对 Cd 胁迫过程中,一方面,部分 *VrSDH* 上调表达促进了酶活性升高,从而推动三羧酸循环和细胞代谢能力,降低了植物体内 Cd 的残留量;另一方面,*SDH* 通过电子呼吸链产生腺苷三磷酸 (ATP),为胁迫下的生命活动提供能量。Fedorin 等<sup>[48]</sup>的研究结果表明:盐胁迫下玉米 (*Zea mays* Linn.) *SDH* 活性升高与编码其催化亚基的基因 *Sdh1-2*、*Sdh2-3* 及编码锚定亚基的基因 *Sdh3-1* 表达量增加有关。在拟南芥中<sup>[49]</sup>,杂合子 *SDH1-1/Sdh1-1* 突变体植株较野生型具有更高的气孔开度和密度,这表明 *SDH* 过表达能够降低气孔开度和密度,进而间接减少污染物的吸入。与对照组相比,绿豆的 12 个 *VrSDH* 在 Cd 胁迫下呈现出不同变化规律,但多数 *VrSDH* 的表达水平上升,且 *SDH* 活性基本升高,这与 Acevedo 等<sup>[50]</sup>对干

旱胁迫下的巴拉圭冬青 (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) 中 *SDH* 的表达变化及 *SDH* 活性变化研究结果类似。但究竟哪些 *VrSDH* 在这一过程中起到关键调控作用,其规律和响应机制如何,仍有待进一步深入研究。后续研究将借助基因编辑技术,敲除或过表达特定 *VrSDH* 基因,以观察其对绿豆 Cd 耐受性及相关指标的影响,从而明确这些基因在耐受 Cd 胁迫机制中的具体功能。

## 4 结 论

本研究共鉴定出绿豆 *VrSDH* 家族 12 个成员,其中 10 个 *VrSDH* 的表达量呈现从根到茎再到叶逐渐递减的趋势;在 Cd 胁迫下,10 个 *VrSDH* 中多数基因的表达量高于对照组,且 *SDH* 活性也总体高于对照组,表明 *VrSDH* 参与了绿豆对 Cd 胁迫的响应过程。

### 参考文献:

- [1] HUANG S B, MILLAR A H. Succinate dehydrogenase: the complex roles of a simple enzyme [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2013, 16(3): 344-349.
- [2] 张晓艳, 杨忠仁, 张凤兰, 等. 干旱胁迫对地梢瓜琥珀酸合成代谢的影响 [J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2020, 48(4): 137-145.
- [3] THIEME C J, ROJAS-TRIANA M, STECYK E, et al. Endogenous *Arabidopsis* messenger RNAs transported to distant tissues [J]. *Nature Plants*, 2015, 1(4): 15025.
- [4] 曹新芳, 黄卉卉, 任秋楠, 等. 泥鳅消化道过氧化物酶、三磷酸腺苷酶、琥珀酸脱氢酶、酸性磷酸酶、碱性磷酸酶及非特异性酯酶的分布与组织定位 [J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2018, 27(5): 453-458.
- [5] 陶丽红, 李佳俊, 夏美荣, 等. 五种琥珀酸脱氢酶抑制剂类杀菌剂与灰葡萄孢琥珀酸脱氢酶的结合模式及抗性机制分析 [J]. *农药学报*, 2021, 23(6): 1085-1096.
- [6] JARDIM-MESSEDER D, CAVERZAN A, RAUBER R, et al. Succinate dehydrogenase (mitochondrial complex II) is a source of reactive oxygen species in plants and regulates development and stress responses [J]. *New Phytologist*, 2015, 208(3): 776-789.
- [7] DAS P, MANNA I, SIL P, et al. Exogenous silicon alters organic acid production and enzymatic activity of TCA cycle in two NaCl stressed indica rice cultivars [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2019, 136: 76-91.
- [8] 刘振宏, 蒋 薇, 刘登望, 等. 花生幼苗期呼吸酶活性对渍涝的响应 [J]. *花生学报*, 2019, 48(2): 27-30.
- [9] 薛智超. 低温胁迫下甘薯采后呼吸代谢的变化及转录组分析 [D]. 杭州: 浙江农林大学, 2024: 25, 37.
- [10] HUANG S B, TAYLOR N L, STRÖHER E, et al. Succinate dehydrogenase assembly factor 2 is needed for assembly and activity of mitochondrial complex II and for normal root elongation in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Journal*, 2013, 73(3): 429-441.
- [11] HUANG S B, BRAUN H-P, GAWRYLUK R M R, et al. Mitochondrial complex II of plants: subunit composition, assembly, and function in respiration and signaling [J]. *The Plant Journal*, 2019, 98(3): 405-417.
- [12] 陈文荣, 马旭佳, 郭燕萍, 等. 镉污染土壤低吸收水稻阻隔技术研究及应用 [J]. *浙江师范大学学报(自然科学版)*, 2021, 44(4): 420-428.
- [13] 黑泽文, 向慧敏, 章家恩, 等. 豆科植物修复土壤重金属污染研究进展 [J]. *生态科学*, 2019, 38(3): 218-224.
- [14] 郝思迪, 王 振, 董官勇, 等. 不同根瘤菌菌株对 Cu 和 Cd 污染土壤中苜蓿的影响 [J]. *植物资源与环境学报*, 2024, 33(4): 30-38, 49.
- [15] SCHAFLEITNER R, NAIR R M, RATHORE A, et al. The AVRDC-The World Vegetable Center mungbean (*Vigna radiata*) core and mini core collections [J]. *BMC Genomics*, 2015, 16(1): 344.
- [16] LIN L H, WU X Y, DENG X Y, et al. Mechanisms of low cadmium accumulation in crops: a comprehensive overview from rhizosphere soil to edible parts [J]. *Environmental Research*, 2024, 245: 118054.
- [17] 赵亚萍, 马成仓, 韩 磊, 等. 镉、砷低积累绿豆品种筛选 [J]. *科技视界*, 2020(14): 181-183.
- [18] WU P M, LENG Y, LI S W, et al. Transcriptome analysis revealed the differential molecular response mechanisms of roots, stems, and leaves in mung bean to cadmium stress [J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2023, 42: 7054-7069.
- [19] 方 妍, 张萌萌, 孙瑞莲. Cd 和 Pb 在水芹菜中的累积及其与营养元素的关系 [J]. *生态科学*, 2020, 39(5): 64-72.
- [20] LENG Y, LI Y, MA Y H, et al. Abscisic acid modulates differential physiological and biochemical responses of roots, stems, and leaves in mung bean seedlings to cadmium stress [J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2021, 28(5): 6030-6043.
- [21] 程 斌, 张创娟, 杨 乐, 等. 绿豆乙醇脱氢酶基因生物信息学分析及其在镉胁迫下的表达特性变化 [J]. *植物资源与环境学报*, 2022, 31(2): 10-21.
- [22] LENG Y, LI Y, WEN Y, et al. Transcriptome analysis provides molecular evidences for growth and adaptation of plant roots in cadmium-contaminated environments [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 204: 111098.
- [23] 徐 鑫, 王浩然, 张 苓, 等. 假俭草 *NRATI* 基因生物信息学和表达特性分析 [J]. *植物资源与环境学报*, 2023, 32(2): 38-46.
- [24] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  method [J]. *Methods*, 2001, 25: 402-408.
- [25] SAHA P, KUNDA P, BISWAS A K. Influence of sodium chloride

- on the regulation of Krebs cycle intermediates and enzymes of respiratory chain in mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek) seedlings[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2012, 60(3): 214–222.
- [26] ZHANG X Y, FENG Z L, ZHAO L H, et al. Succinate dehydrogenase SDH1-1 positively regulates cotton resistance to *Verticillium dahliae* through a salicylic acid pathway[J]. *Journal of Cotton Research*, 2020, 3: 12.
- [27] 张嘉懿. 杨树琥珀酸脱氢酶(SDH)基因克隆及功能分析[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2023.
- [28] DOLFERUS R, OSTERMAN J C, PEACOCK W J, et al. Cloning of the Arabidopsis and rice formaldehyde dehydrogenase genes: implications for the origin of plant ADH enzymes[J]. *Genetics*, 1997, 146(3): 1131–1141.
- [29] MILLAR A A, DENNIS E S. Protein synthesis during oxygen deprivation in cotton[J]. *Functional Plant Biology*, 1996, 23(3): 341–348.
- [30] NABI R B S, TAYADE R, HUSSAIN A, et al. A novel DUF569 gene is a positive regulator of the drought stress response in Arabidopsis[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(10): 5316.
- [31] JAYARAMAN K, SEVANTHI A M, RAMAN K V, et al. Overexpression of a DUF740 family gene (*LOC\_Os04g59420*) imparts enhanced climate resilience through multiple stress tolerance in rice[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 13: 947312.
- [32] LV M M, HOU D J, ZHANG L, et al. Molecular characterization and function analysis of the rice OsDUF1191 family [J]. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 2019, 33(1): 1608–1615.
- [33] CHEN K, WANG Y L, NONG X Y, et al. Characterization and in silico analysis of the domain unknown function DUF568-containing gene family in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *BMC Genomics*, 2023, 24(1): 544.
- [34] SUN F, HUO X, ZHAI Y J, et al. Crystal structure of mitochondrial respiratory membrane protein complex II [J]. *Cell*, 2005, 121: 1043–1057.
- [35] ZONG N C, LI H M, LI H, et al. Integration of cardiac proteome biology and medicine by a specialized knowledgebase [J]. *Circulation Research*, 2013, 113(9): 1043–1053.
- [36] LANCASTER C R, KRÖGER A. Succinate: quinone oxidoreductases; new insights from X-ray crystal structures [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2000, 1459(2/3): 422–431.
- [37] MAKLASHINA E, CECCHINI G, DIKANOV S A. Defining a direction: electron transfer and catalysis in *Escherichia coli* complex II enzymes [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2013, 1827(5): 668–678.
- [38] LEE C P, ELSÄSSER M, FUCHS P, et al. The versatility of plant organic acid metabolism in leaves is underpinned by mitochondrial malate-citrate exchange [J]. *The Plant Cell*, 2021, 33(12): 3700–3720.
- [39] LIU Y M, QU J T, SHI Z W, et al. Comparative genomic analysis of the tricarboxylic acid cycle members in four Solanaceae vegetable crops and expression pattern analysis in *Solanum tuberosum* [J]. *BMC Genomics*, 2021, 22(1): 821.
- [40] MALDONADO M, GUO F, LETTS J A. Atomic structures of respiratory complex III<sub>2</sub>, complex IV, and supercomplex III<sub>2</sub>-IV from vascular plants [J]. *eLife*, 2021, 10: e62047.
- [41] SCHIKOWSKY C, SENKLER J, BRAUN H P. SDH6 and SDH7 contribute to anchoring succinate dehydrogenase to the inner mitochondrial membrane in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Physiology*, 2017, 173(2): 1094–1108.
- [42] 秦智伟, 郭磊, 周秀艳, 等. 黄瓜低霜霉残留性相关基因SDH克隆及表达 [J]. *东北农业大学学报*, 2016, 47(4): 24–33.
- [43] BELT K, HUANG S B, THATCHER L F, et al. Salicylic acid-dependent plant stress signaling via mitochondrial succinate dehydrogenase [J]. *Plant Physiology*, 2017, 173(4): 2029–2040.
- [44] EPRINTSEV A T, FEDORIN D N, IGAMBERDIEV A U. Ca<sup>2+</sup> is involved in phytochrome A-dependent regulation of the succinate dehydrogenase gene *sdh1-2* in *Arabidopsis* [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2013, 170(15): 1349–1352.
- [45] 刘鹏, 金婷婷, 黄朝表, 等. 短期铝胁迫下大豆根系分泌物的初始分泌特征 [J]. *浙江农业学报*, 2008, 20(4): 219–224.
- [46] 郑俊骞, 孙艳, 韩寿坤, 等. 土壤紧实胁迫对黄瓜根系呼吸代谢的影响 [J]. *应用生态学报*, 2013, 24(3): 741–746.
- [47] ROCHA M, LICAUSI F, ARAÚJO W L, et al. Glycolysis and the tricarboxylic acid cycle are linked by alanine aminotransferase during hypoxia induced by waterlogging of *Lotus japonicus* [J]. *Plant Physiology*, 2010, 152(3): 1501–1513.
- [48] FEDORIN D N, EPRINTSEV A T, FLOREZ CARO O J, et al. Effect of salt stress on the activity, expression, and promoter methylation of succinate dehydrogenase and succinic semialdehyde dehydrogenase in maize (*Zea mays* L.) leaves [J]. *Plants*, 2023, 12(1): 68.
- [49] FUENTES D, MENESES M, NUNES-NESI A, et al. A deficiency in the flavoprotein of Arabidopsis mitochondrial complex II results in elevated photosynthesis and better growth in nitrogen-limiting conditions [J]. *Plant Physiology*, 2011, 157: 1114–1127.
- [50] ACEVEDO R M, MAIALE S J, PESSINO S C, et al. A succinate dehydrogenase flavoprotein subunit-like transcript is upregulated in *Ilex paraguariensis* leaves in response to water deficit and abscisic acid [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2013, 65: 48–54.

(责任编辑: 张明霞)