

王海斌,叶江华,孔祥海,等.铜胁迫下不同茶树的生理响应及亚细胞水平铜分布特性[J].江苏农业科学,2016,44(11):219-223.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.11.066

铜胁迫下不同茶树的生理响应 及亚细胞水平铜分布特性

王海斌^{1,3}, 叶江华³, 孔祥海¹, 丁力¹, 张清旭¹, 马小毛¹, 贾小丽^{2,3}

(1. 龙岩学院生命科学学院, 福建龙岩 364012; 2. 武夷学院生态与资源工程学院, 福建武夷山 354300;

3. 福建省农业生态过程与安全监控重点实验室(福建农林大学), 福建福州 350002)

摘要:为了分析不同茶树对 Cu 胁迫的生理响应及组织亚细胞 Cu 分布特性,采用水培法,探讨铁观音、肉桂 2 种茶树在不同浓度 Cu 胁迫下,茶树根部、叶部生理响应及其亚细胞 Cu 分布特征,以期为重金属对茶树毒害机制和茶树对重金属的自我防御研究提供理论依据。结果表明,随着 Cu 胁迫浓度的增加,茶树根部、叶部 SOD、POD、CAT 活性呈现下降趋势,且肉桂对 Cu 胁迫的耐受性高于铁观音。相同浓度 Cu 胁迫下 2 种茶树不同组织亚细胞中的 Cu 含量根部大于叶片。正常条件下,2 种茶树根部、叶部亚细胞组分中细胞器的 Cu 含量最高,当胁迫 Cu 浓度 >0 mg/L、 ≤ 40 mg/L 时,细胞溶质 Cu 含量最高,当胁迫 Cu 浓度 >40 mg/L 时,细胞壁 Cu 含量最高。Cu 胁迫下,铁观音主要采取提高细胞溶质和细胞器中 Cu 离子含量来降低 Cu 离子毒害,而肉桂主要以提高细胞壁中 Cu 离子的结合率来降低 Cu 离子毒害,可见不同的茶树在 Cu 胁迫下所表现的解毒模式存在着一定差异。

关键词:茶树;铜胁迫;生理特性;亚细胞;分布特征

中图分类号: X503.235;S571.101 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)11-0219-05

铜(Cu)是植物体内多酚氧化酶、细胞色素氧化酶、抗坏血酸氧化酶等多种酶类组成成分之一,是植物生长所需的微量元素^[1]。然而,当外界环境存在较大量的 Cu 时,植物根系吸收 Cu 离子后,在植物体内转运,分布并积累于不同的部位,进而导致植物摄入过量 Cu,生长受阻^[2-3]。

众多学者开展了大量研究,探讨重金属胁迫对植物生长的影响,并普遍认为高剂量重金属对植物生长产生一定的毒害作用^[4-6]。植物吸收的重金属离子进入植物组织细胞,对植物细胞产生直接性的毒害,是影响植物生长的关键,不同的植物细胞中重金属分布特征存在着一定的差异^[7-8]。例如,锰在对商陆产生胁迫时,其主要分布在商陆叶片的细胞质可溶性部分,细胞壁次之,细胞器最少^[9]。番茄在铜胁迫下,主要以提高细胞壁和细胞溶质中的铜含量来降低铜离子毒害^[10]。在铅、镉胁迫下,萱草对铅的解毒方式主要采用提高细胞溶质铅含量的方法降低毒性,而对于镉则以提高细胞壁中镉含量的方法降低毒性^[11]。可见,植物在吸收过量重金属离子后,通过自身特有的生理机制对过量重金属进行转化降低毒性以达到抵抗重金属胁迫的效果。

近年来,茶叶经济效益提升,为了有效保证茶叶的产量,

茶园中含金属的化肥、农药、有机肥等大量施用,一方面导致茶园土壤重金属含量增加,另一方面引起茶树体内重金属元素积累量提升^[12-14]。长期以来众多学者主要集中探讨茶叶成品加工后重金属的溶出率、重金属对茶树生长的影响,茶树重金属的累积特性等^[15-17],而对于茶树受到重金属胁迫后,金属离子在茶树体内的积累及形态变化未作深入的研究。本研究以福建著名的茶树品种铁观音、肉桂为研究对象,探讨不同浓度 Cu 胁迫下,2 种茶树响应 Cu 胁迫的生理特性及其亚细胞 Cu 分布特征,以期为研究重金属对茶树毒害机制和茶树对重金属的自我防御提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

福建安溪铁观音 1 年生无性系茶苗,茶苗高度 35 cm 左右,主茎直径约 4.2 mm;福建武夷山 1 年生无性系茶苗,茶苗高度 33 cm 左右,主茎直径 4.1 mm。

试验采用水培法,将茶苗置于预培养液中培养直至恢复正常生长;恢复生长后的茶苗移至含有不同浓度 Cu 离子的溶液中进行 Cu 胁迫;胁迫结束后收集水培茶树的新根和 1 芽 2 叶,一部分用于测定茶树根、叶组织生理指标(超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶活性),另一部分用于测定茶树不同组织亚细胞 Cu 含量。

1.2 茶苗的预培养

茶苗水培营养液配方^[18]为: NH_4^+ 30 mg/L、 NO_3^- 10 mg/L、 PO_4^{3-} 32 mg/L、 K^+ 39 mg/L、 Mg^{2+} 24 mg/L、 Al^{3+} 0.1 mg/L, pH 值为 5.5。

将取回的茶苗用自来水淋洗清洁植株,清洗完成后用蒸馏水冲洗植株 5 次,洗净后的茶苗定植于装有 3 L 蒸馏水的

收稿日期:2016-02-28

基金项目:国家“948”项目(编号:2014-Z36);福建省南平市科技计划(编号:N2013X01-6);福建省农业生态过程与安全监控重点实验室(福建农林大学)开放基金;龙岩学院“人才引进项目”(编号:LB2015001)。

作者简介:王海斌(1983—),男,福建龙海人,博士,讲师,主要从事植物生理与分子生态学研究。E-mail:w13599084845@sina.com。

通信作者:贾小丽,博士,副教授,主要从事植物生理与分子生态学研究。E-mail:jeijyx@126.com。

黑色塑料盆中(容量5 L),每盆定植8株(每种茶树30盆),培养7 d后,将蒸馏水倒净,添加3 L营养液进行恢复培养,培养时间30 d。培养条件为:采用微型气泵连续供气,每隔3 h,停止供气1 h,每天傍晚18:00左右补充水培液至3 L,每7 d更换1次培养液,培养室温度23~25℃,空气湿度70%~75%,光照度2 000 lx,光照时间10 h(08:00—18:00),预培养时间30 d^[19]。预培养结束后,取出茶苗,用蒸馏水反复冲洗茶苗植株,特别是根系位置,除去杂质和根系所带营养液、无机离子,冲洗后的茶苗置于含Cu溶液中进行Cu胁迫处理。

1.3 茶苗Cu盐溶液培养

选择预培养后长势较为一致的茶苗按上述水培条件进行Cu盐溶液试验,培养液中不添加营养成分。水培液中的Cu盐质量浓度设定为40、80、120 mg/L,以未添加Cu盐为对照(0 mg/L),每个处理设置6个重复,每种茶树24盆,处理时间30 d。处理结束后,取不同处理下茶树的根及1芽2叶用于茶树根、叶组织生理指标(超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶活性)和茶树不同组织亚细胞Cu含量的测定。

1.4 茶苗组织生理指标测定

取0.5 g茶树根或叶,加入5 mL预冷提取液(含pH值7.0、浓度为50 mmol/L的磷酸缓冲液和1% PVP),于冰浴条件下研磨匀浆,匀浆离心10 min,转速为12 000 g,上清液用于SOD、CAT及POD活性测定。参照张志良等的方法^[20],SOD、POD活性采用分光光度法测定,CAT活性采用碘量法进行。

1.5 茶苗组织亚细胞结构分离

参照Wang等的方法^[7]对茶苗组织亚细胞结构进行分离。取洗净后茶苗的新鲜根或叶1 g,用8 mL预冷的提取液进行研磨,研磨后用10 mL提取液对研钵进行荡洗并全部转移到50 mL的离心管中。调节预冷至4℃的高速冷冻离心机转速,于300 g离心1 min,收集下部沉淀即为细胞壁组分;上清液继续于离心机中20 000 g离心45 min,收集下部沉淀即为细胞器组分,剩余上清液即为细胞溶质部分。

提取液的组分及浓度:蔗糖0.25 mol/L,顺丁烯二酸盐缓冲液50 mmol/L(pH值7.8),氯化镁1 mmol/L,半胱氨酸10 mmol/L。

1.6 茶苗组织亚细胞组分Cu含量测定

参照赵先明等的方法^[19],将分离后的亚细胞组分移入150 mL聚四氟乙烯烧杯中,置于电热板上蒸发至近干,加入浓硝酸和高氯酸混合液(体积比5:1)25 mL,盖上表面皿浸泡过夜。次日于电热板上加热消解,消解温度为160℃,消解至消化液呈淡黄色或无色、体积为1~2 mL为止。冷却后,用少量蒸馏水多次洗涤烧杯,合并洗涤液并转入50 mL的容量瓶中,定容,混匀过滤,待测,每个样品设置3个重复,同时以试剂空白作为对照。采用原子吸收分光光度法测定。

1.7 数据处理与分析

试验数据分析过程中的方差、显著性分析以及百分比含量换算均使用Excel软件和SPSS软件进行。

2 结果与分析

2.1 Cu胁迫下不同茶树生理响应分析

Cu胁迫下,不同茶树根部、叶部SOD、POD、CAT活性分

析结果(图1)表明,随着Cu浓度的增加,2种茶树根部、叶部SOD、POD、CAT活性呈现下降趋势。与对照相比,高浓度Cu(120 mg/L)胁迫下,铁观音的根部SOD、POD、CAT活性下降率分别为44.48%、41.56%、45.41%,肉桂则分别为31.93%、35.71%、32.57%;叶部SOD、POD、CAT活性下降率,铁观音分别为41.85%、30.15%、33.77%,肉桂则分别为30.56%、23.05%、24.47%。

可见,Cu胁迫下,茶树的生理特性受到影响,表现为SOD、POD、CAT活性下降,而不同的茶树品种,肉桂对Cu胁迫的耐受性高于铁观音,表现为相同浓度Cu胁迫下,肉桂生理指标的下降率小,受Cu毒害的程度低。

2.2 Cu胁迫下不同茶树组织亚细胞Cu含量分析

不同茶树组织亚细胞Cu含量分析结果(图2)表明,Cu胁迫下,随着Cu浓度的升高,不同茶树组织亚细胞中的Cu含量呈现上升趋势。不同茶树品种在相同浓度Cu胁迫下,其根、叶组织亚细胞中Cu含量差异不显著,但同一茶树品种在Cu胁迫下,其根、叶组织亚细胞中Cu含量存在明显的区别,表现为在相同浓度Cu胁迫下铁观音、肉桂不同组织亚细胞中的Cu含量根部大于叶片。可见,Cu胁迫下,2种茶树不同组织亚细胞Cu元素累积特性相似,而同一茶树不同组织亚细胞对Cu元素的积累存在一定的差异。

2.3 Cu胁迫下不同茶树组织中Cu的亚细胞分布分析

由表1、表2可看出,随着Cu胁迫浓度的升高,不同茶树组织亚细胞中Cu含量呈现上升趋势。不同浓度Cu胁迫下,茶树亚细胞Cu含量分析结果表明,正常条件下,2种茶树根部、叶部亚细胞中的Cu含量,细胞器>细胞溶质>细胞壁,当胁迫Cu浓度>0 mg/L、≤40 mg/L时,2种茶树根部、叶部亚细胞中的Cu含量,细胞溶质>细胞器>细胞壁,当胁迫Cu浓度>40 mg/L时,则表现为细胞壁>细胞溶质>细胞器。

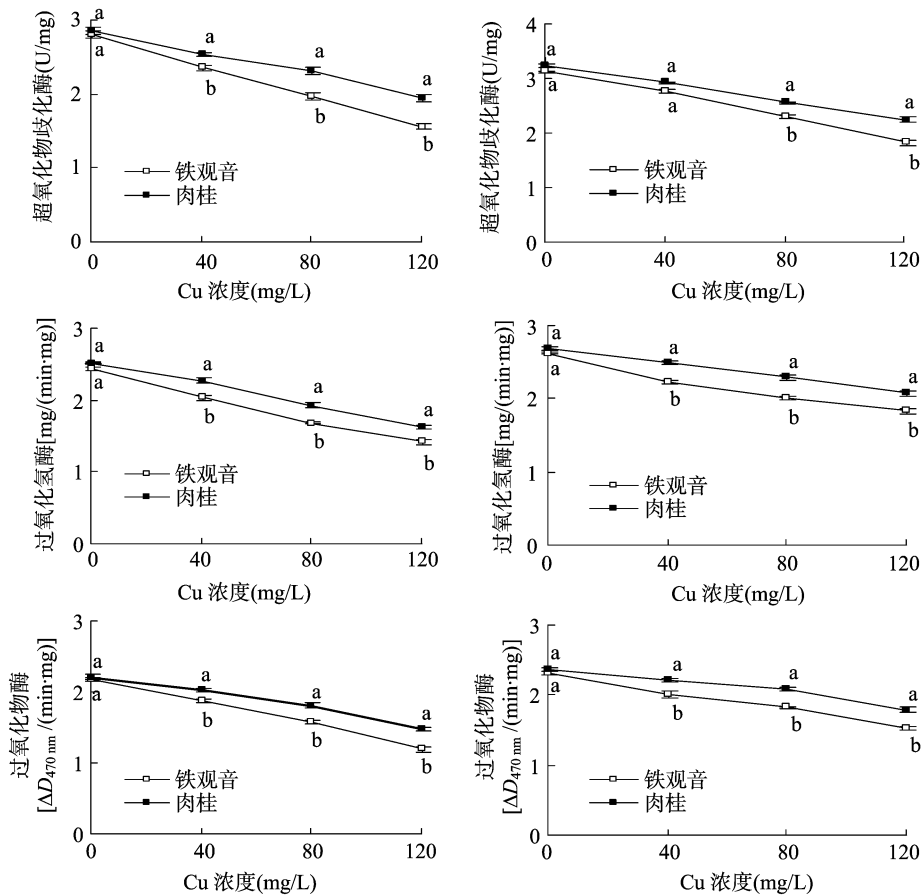
可见,随着Cu胁迫浓度的增加,2种茶树组织亚细胞中Cu含量呈现上升趋势,组织亚细胞中细胞壁、细胞溶质、细胞器之间的Cu积累量大小变化趋势与胁迫Cu浓度的高低有关。

2.4 Cu胁迫下不同茶树组织亚细胞中Cu含量百分比分析

茶树根部亚细胞Cu含量百分比分析结果(图3)表明,随着Cu浓度的增加(0~120 mg/L),2种茶树根部亚细胞中的细胞壁Cu含量百分比呈上升趋势,表现为铁观音的变化范围在21.32%~45.53%,肉桂为19.54%~56.41%;而细胞器、细胞溶质的Cu含量百分比呈下降趋势,表现为铁观音的变化范围分别在21.16%~39.57%、33.31%~39.11%,肉桂的变化范围则分别为15.83%~38.87%、27.76%~41.59%。

茶树叶部亚细胞Cu含量百分比分析结果(图4)表明,随着Cu浓度的增加(0~120 mg/L),2种茶树叶部亚细胞中的细胞壁Cu含量百分比呈上升趋势,表现为铁观音的变化范围在20.53%~41.16%,肉桂为21.18%~56.26%;而细胞器、细胞溶质的Cu含量百分比呈下降趋势,表现为铁观音的变化范围分别在26.72%~42.35%、32.12%~37.12%,肉桂的变化范围则分别为18.43%~41.26%、25.31%~37.56%。

可见,Cu胁迫下,不同茶树品种在Cu毒害下的解毒模式存在差异,表现在不同亚细胞组分中的Cu含量百分比存在显著差异。



左：根；右：叶；不同小写字母表示不同茶树组织生理指标在 $P < 0.05$ 水平差异显著。

图1 Cu胁迫下不同茶树组织超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、过氧化物酶活性变化

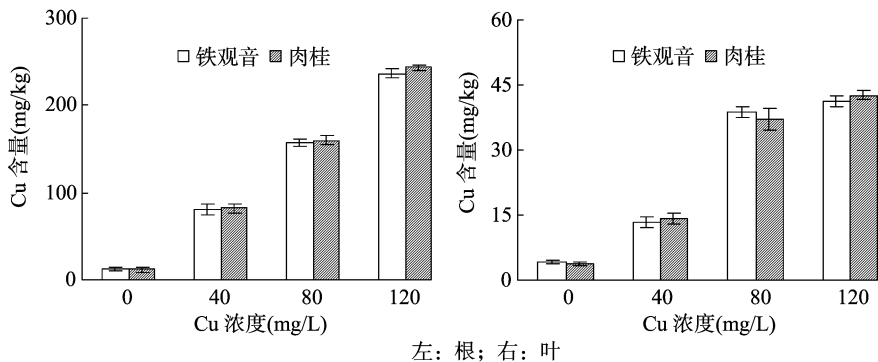


图2 Cu胁迫下不同茶树组织亚细胞中Cu含量变化

表1 Cu胁迫下不同茶树根部亚细胞中Cu含量变化

Cu 浓度 (mg/L)	铁观音根部亚细胞 Cu 含量 (mg/kg FW)			肉桂根部亚细胞 Cu 含量 (mg/kg FW)		
	细胞壁	细胞器	细胞溶质	细胞壁	细胞器	细胞溶质
0	2.65 ± 0.24d	4.93 ± 0.31d	4.87 ± 0.27d	2.25 ± 0.13d	4.68 ± 0.21d	4.58 ± 0.28d
40	23.96 ± 1.25c	27.07 ± 0.98c	30.63 ± 1.36c	28.50 ± 0.87c	24.88 ± 1.16c	29.09 ± 1.93c
80	58.89 ± 2.58b	41.36 ± 2.14b	57.13 ± 2.43b	73.08 ± 2.35b	33.01 ± 1.79b	53.75 ± 2.06b
120	107.78 ± 2.94a	50.09 ± 3.06a	78.85 ± 3.02a	137.37 ± 2.48a	38.55 ± 2.34a	67.60 ± 2.17a

注：同列不同小写字母表示不同浓度 Cu 胁迫下，茶树亚细胞中相应指标在 $P < 0.05$ 水平差异显著，下同。

3 结论与讨论

Cu 是植物生长所需的微量元素之一。植物对 Cu 离子的

吸收是一种主动吸收的过程，植物根系吸收 Cu 离子后，在植物体内转运，分布并积累于不同的部位^[21]。然而，金属离子的过量摄入极易导致植物体的机能受到破坏，进而影响植物

表 2 Cu 胁迫下不同茶树茶叶部亚细胞中 Cu 含量变化

Cu 浓度 (mg/L)	铁观音茶叶部亚细胞 Cu 含量 (mg/kg FW)			肉桂茶叶部亚细胞 Cu 含量 (mg/kg FW)		
	细胞壁	细胞器	细胞溶质	细胞壁	细胞器	细胞溶质
0	0.87 ± 0.08d	1.80 ± 0.12c	1.58 ± 0.09c	0.79 ± 0.06d	1.55 ± 0.13c	1.41 ± 0.11c
40	3.62 ± 0.21c	5.20 ± 0.23b	4.37 ± 0.34b	4.77 ± 0.18c	4.22 ± 0.19b	5.29 ± 0.25b
80	14.07 ± 0.24b	11.75 ± 0.23a	13.05 ± 0.26a	19.34 ± 0.21b	7.77 ± 0.24a	10.14 ± 0.13a
120	16.98 ± 0.12a	11.02 ± 0.42a	13.25 ± 0.35a	24.01 ± 0.42a	7.87 ± 0.19a	10.80 ± 0.28a

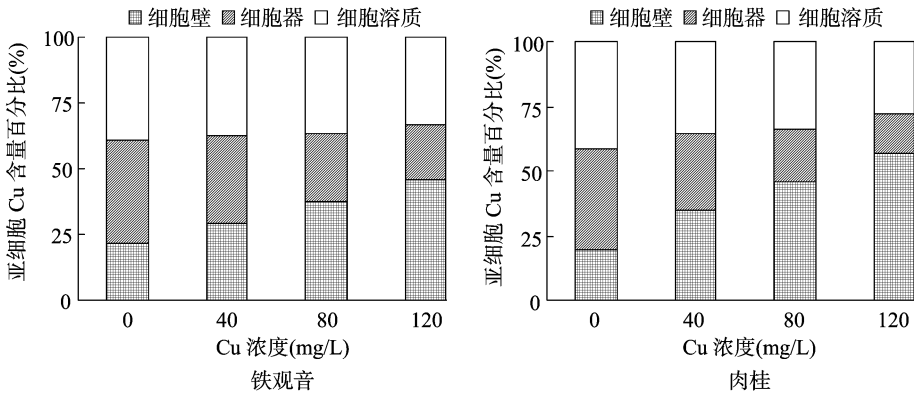


图 3 Cu 胁迫下不同茶树根部亚细胞 Cu 所占百分比

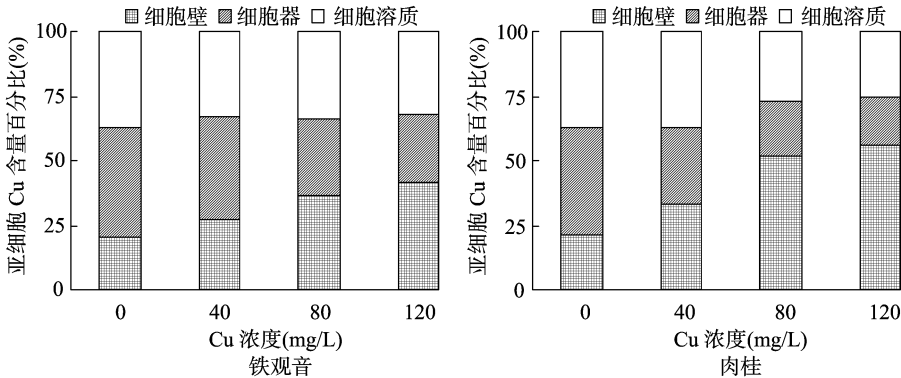


图 4 Cu 胁迫下不同茶树茶叶部亚细胞 Cu 所占百分比

的产量和品质^[22-26]。本研究结果表明,Cu 胁迫下,随着 Cu 浓度的升高,2 种茶树根部、叶部的 SOD、POD、CAT 活性呈现下降趋势,但不同的茶树品种对 Cu 胁迫的耐受性不同,肉桂对 Cu 胁迫的耐受性高于铁观音,表现为相同浓度 Cu 胁迫下,肉桂生理指标的下降率小,受 Cu 毒害的程度低。

据报道,重金属胁迫下,植物吸收过量金属离子后,在金属离子的毒害下,植物细胞内的离子和有机物外渗,导致外界的有毒物质大量进入,植物体内的一系列生理生化过程失去平衡,植物的生长发育受到影响^[27]。本研究结果表明,不同茶树组织亚细胞 Cu 元素累积特性相似,即 2 种茶树亚细胞 Cu 元素含量不存在显著差异。本研究进一步分析 Cu 胁迫下不同茶树组织亚细胞组分 Cu 含量,结果表明,正常条件下,2 种茶树根部、叶部亚细胞组分中细胞器的 Cu 含量最高,当胁迫 Cu 浓度 >0 mg/L、≤40 mg/L 时,细胞溶质 Cu 含量最高,当胁迫 Cu 浓度 >40 mg/L 时,细胞壁 Cu 含量最高。Cu 是植物生长所需的微量元素,是植物体内多酚氧化酶、细胞色素氧化酶、抗坏血酸氧化酶等多种酶类组成成分之一^[1]。可见,在正常条件下,茶树吸收外界的 Cu 离子主要用于细胞器中相关酶的结合,实现酶活性的高效表达。当 Cu 胁迫浓度增加后,Cu 离子进入茶树细胞并在植物细胞内大量积累,对茶

树的生长产生影响,进入茶树细胞的 Cu 离子在细胞溶质内有机酸或蛋白质的络合下转变为惰性态 Cu^[10]。然而,在高浓度 Cu 胁迫下,细胞溶质无法有效转化进入茶树细胞内的 Cu 离子,茶树细胞启动外层细胞壁对 Cu 离子进行阻隔,降低毒性。细胞壁是金属离子进入植物细胞的首道屏障,细胞壁上含有大量的纤维素、木质素、果胶、蛋白质等组分可结合 Cu 离子阻碍其进入细胞内,同时细胞壁上的负电荷有利于吸附 Cu 离子,阻止 Cu 离子进入细胞^[28]。可见,不同浓度 Cu 胁迫下,植物采取的解毒策略不同。

此外,不同茶树组织亚细胞中 Cu 含量百分比分析结果表明,Cu 胁迫下,不同茶树品种在 Cu 毒害下的解毒模式存在差异,肉桂主要以提高细胞壁中 Cu 离子的结合率来降低 Cu 离子毒害,表现为在高浓度 Cu (120 mg/L) 胁迫下,肉桂的根部细胞壁 Cu 含量百分比为 56.41%,叶部则为 56.26%,而铁观音根部为 45.53%,叶部为 41.16%。铁观音在 Cu 离子毒害下主要采取提高细胞溶质和细胞器中 Cu 离子含量来降低 Cu 离子毒害,表现为在高浓度 Cu (120 mg/L) 胁迫下,铁观音根部亚细胞组分—细胞器、细胞溶质 Cu 含量百分比为 21.16%、33.31%,肉桂则分别为 15.83%、27.76%;而叶部,铁观音细胞器、细胞溶质 Cu 含量百分比为 26.72%、

32.12%,肉桂则分别为 18.43%、25.31%。据报道,金属离子的过量摄入极易导致植物体的机能受到破坏,植物体的光合作用及呼吸作用受到抑制,叶绿体及线粒体受到破坏。上述研究也证实,铁观音在相同浓度 Cu 胁迫下,受 Cu 毒害的程度高于肉桂,这是二者在 Cu 离子毒害下所采取策略不同所引起的^[22-23]。

综上所述,Cu 胁迫下,随着胁迫 Cu 浓度的升高,肉桂对 Cu 胁迫的耐受性高于铁观音;2 种茶树不同组织亚细胞的 Cu 含量呈现上升趋势,但同一组织亚细胞不同组分之间存在显著差异;Cu 胁迫下,铁观音主要采取提高细胞溶质和细胞器中 Cu 离子含量来降低 Cu 离子毒害,而肉桂主要以提高细胞壁中 Cu 离子的结合率来降低 Cu 离子毒害。可见,不同的茶树在 Cu 胁迫下所表现的解毒模式存在着一定差异。然而,Cu 胁迫下,不同茶树相应 Cu 离子毒害的分子生理机制是否存在一定的差异及其变化模式,还有待于进一步深入研究。

参考文献:

- [1] Hevia K, Arancibia V, Carlos R R. Levels of copper in sweeteners, sugar, tea, coffee and mate infusions. Determination by adsorptive stripping voltammetry in the presence of α - lipoic acid [J]. Microchemical Journal, 2015, 119: 11 - 16.
- [2] Robinson N J, Tommey A M, Kuske C, et al. Plant metallothioneins [J]. Biochem J, 1993, 295(1): 1 - 10.
- [3] 田生科, 李廷轩, 杨肖娥, 等. 植物对铜的吸收运输及毒害机理研究进展[J]. 土壤通报, 2006, 37(2): 387 - 394.
- [4] Navarro M, Wood R J. Plasma changes in micronutrients following a multivitamin and mineral supplement in healthy adults [J]. J Am Coll Nutr, 2003, 22(2): 124 - 129.
- [5] Sarma L S, Kumar J R, Reddy K J, et al. Development of an extractive spectro - photometric method for the determination of copper (II) in leaf vegetable and pharmaceutical samples using pyridoxal - 4 - phenyl - 3 - thiosemicarbazone (PPT) [J]. J Agric Food Chem, 2005, 53(14): 5492 - 5498.
- [6] Ngah W W S, Hanafiah M A K M. Removal of heavy metal ions from wastewater by chemically modified plant wastes as adsorbents: a review [J]. Bioresour Technol, 2008, 99(10): 3935 - 3948.
- [7] Wang X, Liu Y G, Zeng G M, et al. Subcellular distribution and chemical forms of cadmium in *Beckmeria nivea* (L.) Gaud [J]. Environmental and Experimental Botany, 2008, 62(3): 389 - 395.
- [8] Wu F B, Dong J, Qian Q Q, et al. Subcellular distribution and chemical forms of Cd and Cd - Zn interaction in different barley genotypes [J]. Chemosphere, 2005, 60(10): 1437 - 1446.
- [9] 徐向华, 施积炎, 陈新才, 等. 锰在商陆叶片的细胞分布及化学形态分析[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(2): 515 - 520.
- [10] 姜春辉, 王秀峰, 尹 博, 等. 外源 NO 对 Cu 胁迫下番茄 Cu 的亚细胞分布和化学形态的影响[J]. 应用生态学报, 2012, 23(11): 3033 - 3039.
- [11] 李红婷, 董 然. 2 种萱草对铅、镉的吸收累积及其在亚细胞的分布和化学形态特征[J]. 华南农业大学学报, 2015, 36(4): 59 - 64.
- [12] Alcolea A, Vázquez M, Caparrós A, et al. Heavy metal removal of intermittent acid mine drainage with an open limestone channel [J]. Miner Eng, 2012, 26: 86 - 98.
- [13] Chuah T G, Jumasiah A, Azni I, et al. Rice husk as a potentially low - cost biosorbent for heavy metal and dye removal: an overview [J]. Desalt, 2005, 175(3): 305 - 316.
- [14] Davies H, Weber P, Lindsay P, et al. Characterisation of acid mine drainage in a high rainfall mountain environment, New Zealand [J]. Sci Total Environ, 2011, 409(15): 2971 - 2980.
- [15] Mehra A, Barker C L. Leaching and bioavailability of aluminium, copper and manganese from tea (*Camellia sinensis*) [J]. Food Chem, 2007, 100(4): 1456 - 1463.
- [16] Seenivasan S, Manikandan N. Heavy metal content of black teas from South India [J]. Food Control, 2008, 19(8): 746 - 749.
- [17] Wang L, Jiang L, Zhao Z Y, et al. Lithium content of some teas and their infusions consumed in China [J]. Food Sci Biotechnol, 2014, 23(1): 323 - 325.
- [18] Miyauchi S, Yuki T, Fuji H, et al. High - quality green tea leaf production by artificial cultivation under growth chamber conditions considering amino acids profile [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2014, 118(6): 710 - 715.
- [19] 赵先明, 汪艳霞, 杜 晓, 等. 水培茶树对铅的吸收与累积特性研究[J]. 茶叶科学, 2011, 31(3): 237 - 246.
- [20] 张志良, 瞿伟菁. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2003.
- [21] Mohammad N, Samar M, Alireza I. Levels of Cu, Zn, Pb, and Cd in the leaves of the tea plant (*Camellia sinensis*) and in the soil of Gilan and Mazandaran farms of Iran [J]. Food Measure, 2014, 8(4): 277 - 282.
- [22] Qiao X Q, Shi G X, Jia R, et al. Physiological and biochemical responses induced by lead stress in *Spirodela polyrhiza* [J]. Plant Growth Regulation, 2012, 67(3): 217 - 225.
- [23] Zeng L S, Liao M, Chen C L, et al. Effects of lead contamination on soil enzymatic activities, microbial biomass, and rice physiological indices in soil - lead - rice (*Oryza sativa* L.) system [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2007, 67(1): 67 - 74.
- [24] 宋 宁, 李柯妮, 王康才, 等. 根外喷施铜、锰、锌对桔梗生长及品质的影响[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(9): 285 - 289.
- [25] 赵 慧, 徐迎春, 张 翔, 等. 外源 NO 对铜、镉胁迫下狭叶香蒲生理反应的影响[J]. 江苏农业学报, 2015, 31(2): 260 - 266.
- [26] 李钠钾, 许安定, 江厚龙, 等. 不同浓度硫酸铜对烟草漂浮育苗根系生长及光合特性的影响[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(1): 110 - 113.
- [27] Sarre G, Saumitou - Laprade P, Bert V, et al. Forms of zinc accumulated in the hyperaccumulator *Arabidopsis halleri* [J]. Plant Physiol, 2002, 130(4): 1815 - 1826.
- [28] An L Z, Liu Y H, Zhang M X, et al. Effects of nitric oxide on growth of maize seedling leaves in the presence or absence of ultraviolet - B radiation [J]. Journal of Plant Physiology, 2005, 162(3): 317 - 326.