

邢安琪,田志强,储睿文,等. 一氧化氮对茶树不同组织响应铝胁迫的影响[J]. 江苏农业科学,2023,51(7):110-117.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2023.07.016

一氧化氮对茶树不同组织响应铝胁迫的影响

邢安琪¹, 田志强¹, 储睿文², 徐晓寒¹, 尹娟³, 戴令聪¹, 林凡力¹, 杨亦扬², 王玉花¹

(1. 南京农业大学园艺学院, 江苏南京 210095; 2. 江苏省农业科学院休闲农业研究所, 江苏南京 210014;

3. 江苏茅山茶海有限公司, 江苏常州 213200)

摘要:为探索外源 NO 在茶树不同组织响应 Al^{3+} 胁迫生理过程中发挥的作用,以茶树不同组织为试验材料,研究不同处理下(对照、 Al^{3+} 处理、 Al^{3+} + NO 释放剂 DEA NONOate 复合处理、 Al^{3+} + NO 清除剂 cPTIO 复合处理)对茶苗 Al^{3+} 含量、NO 含量、NOS 活性、丙二醛含量、游离脯氨酸含量、抗氧化酶活性等指标的影响。结果表明,外源添加 Al^{3+} 促进了茶树体内 Al^{3+} 的累积;外源 NO 作为一种正调控因子参与了茶树各组织对 Al^{3+} 的响应,促进茶树不同组织对 Al^{3+} 的吸收,增强 Al^{3+} 给茶苗带来的氧化损伤;而外源添加 cPTIO 则可以有效缓解茶树的 Al^{3+} 胁迫;外源添加 Al^{3+} 能够增加 NO 含量但不显著,与此同时 NOS 活性有明显提高;此外, Al^{3+} 胁迫造成 MDA 含量增加,也伴随 Pro 含量及 SOD、POD、CAT 等抗氧化酶活性的提高;积极应对茶树遭受的 Al^{3+} 胁迫,尤其表现在 Al^{3+} + NO 复合处理中。综上,降低茶树的 NO 含量可调节茶树体内 Al^{3+} 水平,缓解茶树的 Al^{3+} 胁迫,期待本研究结果可为茶树降铝措施的研发提供新参考。

关键词:茶树;铝胁迫;一氧化氮;NOS 活性;抗氧化酶活性

中图分类号:S571.101 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2023)07-0110-08

茶树 [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze] 适合生长在 pH 值为 4.5~6.5 的酸性土壤。当土壤的 pH 值 < 5 时,稳定的铝盐可转化为易被植物吸收的游离铝离子 (Al^{3+})^[1],从而影响植物的生长。铝毒是当前酸性土壤限制植物生长的一个主要因素。与其他植物相比,茶树具有“喜酸耐铝”的特性,其成熟叶片的铝含量可高达 30 000 mg/kg 而不表现铝毒害症状^[2]。铝 (Al) 也是茶树根系生长的必需元素^[3],在酸性条件下可促进茶苗新根生长,但过量的 Al^{3+} 又影响茶树根系生长^[4]。丙二醛 (MDA) 是膜脂过氧化作用的终产物,在植物遭受 Al^{3+} 胁迫时,其含量在植物体内显著增加。研究发现,低浓度的铝有利于茶叶细胞膜的稳定性,但随着 Al^{3+} 浓度的增加,茶树 MDA 含量也呈增加趋势,进而对茶

树造成伤害^[5]。 Al^{3+} 胁迫不仅对细胞质膜有潜在伤害,并且对植物体内的酶活性也会产生影响。植物在遭受 Al^{3+} 胁迫时,其体内的抗氧化系统能够发挥保护作用^[6]。茶树也不例外,在 Al^{3+} 胁迫下茶树体内的抗氧化系统发生变化,通过减少活性氧自由基等毒害物质而增加茶树的耐受性^[7]。同时, Al^{3+} 胁迫也对茶叶的品质成分如茶多酚、儿茶素、氨基酸、咖啡碱等物质含量有一定的影响^[8]。因此,探索茶树降铝措施对缓解茶树铝胁迫、减少茶叶中的铝含量以及提高茶叶品质具有非常重要的指导意义。

一氧化氮 (NO) 是一种广谱信号分子,植物主要通过酶促反应和非酶促反应生成内源 NO。其中,酶促反应主要包括一氧化氮合酶 (NOS) 途径和硝酸还原酶途径^[9]。NO 广泛存在于植物的各种生理生化活动中,近年来的研究表明,NO 同样是植物响应生物胁迫和非生物胁迫的重要信号分子。外源添加 NO 可以显著提高植物体内抗氧化酶活性,改善根系形态,促进玉米对胁迫的适应能力,有效缓解胁迫对玉米造成的损伤^[10]。提前施用外源 NO 供体硝普钠 (SNP) 可显著缓解 Al^{3+} 胁迫对根长的抑制并减少铝在根尖的积累,NO 清除剂 cPTIO [2-(4-carboxy-2-phenyl)-4,4,5,5-tetramethylinidazoline-1-oxyl-3-oxide] 则可以在

收稿日期:2022-06-02

基金项目:国家自然科学基金(编号:31972458);江苏现代农业(茶叶)产业技术体系项目(编号:JATS[2022]458);常州市科技支撑计划(编号:CE20212002);江苏省农业重大技术协同推广计划试点项目(编号:2020-SJ-047-02-1)。

作者简介:邢安琪(1994—),女,河南安阳人,博士研究生,主要从事茶树栽培育种研究。E-mail:2020204039@stu.njau.edu.cn。

通信作者:王玉花,博士,教授,主要从事茶树栽培育种研究。E-mail:wangyuhua@njau.edu.cn。

Al^{3+} 存在下完全逆转 NO 对根生长的影响^[11]。此外,发现 NO 在小麦^[12] 和红芸豆^[13] 中均可以通过增强抗氧化酶活性进而减少 ROS 积累,明显缓解氧化胁迫。目前关于 Al^{3+} 胁迫和 NO 信号分子关系的研究鲜有报道,并且缺少 NO 信号分子对茶树耐 Al^{3+} 作用的研究。

本试验通过研究外源施加不同处理(对照、 Al^{3+} 处理、 Al^{3+} + NO 释放剂 DEA NONOate 复合处理、 Al^{3+} + NO 清除剂 cPTIO 复合处理)对茶苗不同组织的影响,初步探索外源 NO 在茶树不同组织响应 Al^{3+} 胁迫生理过程中发挥的作用,为进一步研究缓解茶树 Al^{3+} 胁迫、降低茶树 Al^{3+} 累积提供新思路。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验于 2021 年 6—7 月在南京农业大学智能温室进行。供试材料为茶树品种龙井 43 的二年生扦插苗,由江苏省高淳市南京雅润茶业有限公司提供。将茶苗根部泥土清洗后转移到清水中预培养 3 d,之后参照小西茂毅营养液配方^[14] 在 1/8、1/4、1/2 浓度下各培养 5 d,直至全营养液培养,营养液 pH 值为 5.5。最后在含有不同处理培养液的 50 mL 锥形瓶(锡纸包裹)中处理 15 d,每瓶 2 株茶苗。每 3 d 更换 1 次处理液,并保持通气。培养光照度约 230 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,昼/夜时长 16 h/8 h,温度 25 $^{\circ}\text{C}$,空气湿度 65% ~ 80%。

试验共分为 4 组处理,分别为对照组、单一铝(2.5 mmol/L Al^{3+})处理组、铝和 25 $\mu\text{mol}/\text{L}$ NO 释放剂(DEA NONOate)复合(Al^{3+} + NO)处理组、铝和 200 $\mu\text{mol}/\text{L}$ NO 清除剂(cPTIO)复合(Al^{3+} + cPTIO)处理组。其中,使用 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ 作为铝处理试剂,NO 释放剂及 NO 清除剂使用浓度参照 Wang 等使用浓度^[15]。培养完毕后,收集处理后的根、茎、叶,部分样品进行杀青烘干研磨,保存在干燥皿内,另一部分样品在液氮中冷冻并保存于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱内。每个处理重复 3 次。

1.2 测定方法

1.2.1 茶树不同组织 Al^{3+} 含量的测定 对处理茶叶的各组织进行烘干、研磨后,称取 0.1 g 样品到消解管中,再添加 2.5 mL 浓硝酸,随后利用微波消解仪(MARS 6,美国 CEM 公司)进行样品消煮,最后使用 ICP - OES 电感耦合等离子体发射光谱仪(Optima 8000,美国珀金埃尔默仪器有限公司)测定

不同处理下茶树各组织的 Al^{3+} 含量。

1.2.2 茶树不同组织 NO 含量以及 NOS 活性的测定 茶树不同组织总 NO 含量参照一氧化氮(NO)测定试剂盒(A013 - 2 - 1,南京建成生物工程研究所)说明书进行测定。NOS 活性的测定参照 NOS 检测试剂盒(A014 - 2 - 2,南京建成生物工程研究所)说明书进行检测。

1.2.3 茶树不同组织丙二醛、脯氨酸及抗氧化酶活性的测定 茶树不同组织内丙二醛含量的测定参照 MDA 检测试剂盒(A003 - 1 - 2,南京建成生物工程研究所,中国)说明书进行。茶树不同器官的脯氨酸(Pro)含量以及抗氧化酶活性测定参考李合生《植物生理生化试验原理和技术》的方法^[16]。

茶树不同器官的脯氨酸(Pro)含量测定参考李合生的方法^[16]。称取新鲜植物组织 0.5 g,加入 5 mL 3% 磺基水杨酸,沸水浴 10 min 后,冷却至室温。取上清液 2 mL 转移至另一试管,加入 2 mL 冰乙酸和 3 mL 酸性茚三酮,摇匀后沸水浴 40 min,取出冷却后加入 5 mL 甲苯溶液,充分振荡后使其静置分层,吸取甲苯层在 520 nm 波长下比色。

茶树不同器官的抗氧化酶活性测定参考李合生的方法^[16]。称取 0.5 g 新鲜植物组织,用提前预冷的 62.5 mmol/L pH 值 7.8 的磷酸盐缓冲液研磨匀浆;在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下,10 000 r/min 离心 30 min。取上清液保存于 4 $^{\circ}\text{C}$ 以待测抗氧化酶活性。

超氧化物歧化酶(SOD)活性测定:将 2.1 mL 62.5 mmol/L pH 值 7.8 的磷酸缓冲液、0.1 mL 60 mmol/L 核黄素、0.3 mL 130 mmol/L 甲硫氨酸(Met)、0.1 mL 0.3 mmol/L EDTA - Na_2 、0.2 mL 1.125 mmol/L 四氮唑蓝(NBT)以及 0.2 mL 待测酶液混匀,置于 4 000 lx 光照下,反应 30 min,于 560 nm 下比色。设置 2 个对照管,不照光为空白管。

过氧化物酶(POD)活性测定:将 4 mL 反应混合液[3 mL 愈创木酚反应混合液、0.8 mL pH 值 7.0 磷酸缓冲液与 H_2O_2 混合液(500 : 1)、0.2 mL 待测酶液]混匀。随后在 470 nm 波长下比色,从 0 开始计时,30 s 读数 1 次,连续读取 3 min。

过氧化氢酶(CAT)活性测定:将 1.5 mL pH 值 7.8 的磷酸缓冲液、1.0 mL 蒸馏水、0.2 mL 待测酶液混匀,25 $^{\circ}\text{C}$ 条件下反应 20 min。反应结束后,迅速加入 0.3 mL 0.1 mol/L 的 H_2O_2 终止反应,在 240 nm 波长下进行测定,从 0 开始计时,30 s 读数 1 次,连续读取 3 min。

1.3 数据分析

使用 Excel 2010、GraphPad Prism 8.0.1、IBM SPSS Statistics 20 对试验数据进行统计处理。以 Duncan's 新复极差法分析数据,使用不同字母表示数据间的显著差异性。

2 结果与分析

2.1 一氧化氮对茶树 Al^{3+} 含量、NO 含量以及 NOS 活性的影响

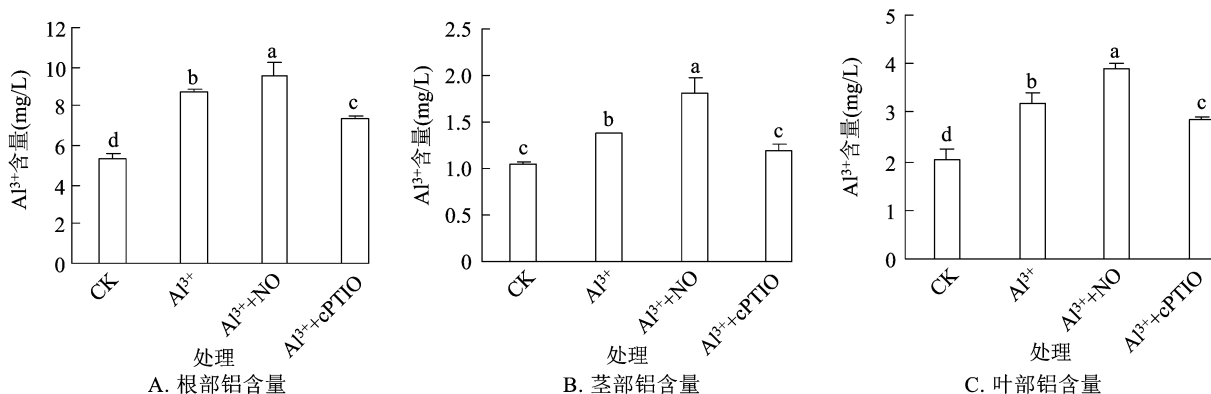
2.1.1 不同处理对茶苗各组织 Al^{3+} 含量的影响

茶苗根系的 Al^{3+} 含量在不同处理间具有显著性差异 ($P < 0.05$) (图 1 - A)。其中,对照组根系的 Al^{3+} 含量最低,为 5.38 mg/L。 Al^{3+} + NO 处理组在茶树根系内的 Al^{3+} 含量最高,为 9.61 mg/L,相对于对照组显著升高了 78.63%。其次是 Al^{3+} 处理组的 Al^{3+} 含量,为 8.69 mg/L,与对照组相比显著提升了 61.53%,而 Al^{3+} + cPTIO 处理组的 Al^{3+} 含量显著低于 Al^{3+} 处理组和 Al^{3+} + NO 处理组,但显著高于对

照组。

茶苗茎部的 Al^{3+} 含量在不同处理间具有一定差异(图 1 - B)。4 组处理的茎部 Al^{3+} 含量由高到底依次是 Al^{3+} + NO 处理组(1.81 mg/L)、 Al^{3+} 处理组(1.39 mg/L)、 Al^{3+} + cPTIO 处理组(1.18 mg/L)、对照组(1.05 mg/L),其中 Al^{3+} + NO 处理组、 Al^{3+} 处理组的 Al^{3+} 含量均显著高于对照组,并且相较于对照组分别增加 72.38%、32.38%。 Al^{3+} + cPTIO 处理组的 Al^{3+} 含量虽然高于对照组,但无显著性差异 ($P > 0.05$)。

茶苗叶片内的 Al^{3+} 含量在不同处理下的变化如图 1 - C 所示,4 个处理组之间均具有显著性差异。与根系 Al^{3+} 含量变化类似, Al^{3+} + NO 处理下的 Al^{3+} 含量为 3.88 mg/L,显著高于其他 3 组处理。并且与 Al^{3+} 含量最低的对照组(2.06 mg/L)相比显著增加 88.35%,与 Al^{3+} 处理组(3.19 mg/L)相比显著增加 21.63%,与 Al^{3+} + cPTIO 处理组(2.88 mg/L)相比显著增加 34.72%。



不同小写字母表示差异达到显著水平 ($P < 0.05$)。下图同

图1 不同处理下茶苗根、茎、叶的 Al^{3+} 含量

2.1.2 不同处理对茶苗各组织 NO 含量以及 NOS 活性的影响 茶苗不同组织的 NO 含量在 4 组处理中产生不同的变化(图 2 - A、图 2 - B、图 2 - C)。其中,茶根系 Al^{3+} + NO 处理组的 NO 含量最高,为 71.68 $\mu\text{mol/g}$,且显著高于 Al^{3+} + cPTIO 处理组(31.61 $\mu\text{mol/g}$)、 Al^{3+} 处理组(57.40 $\mu\text{mol/g}$)和对照组(49.91 $\mu\text{mol/g}$)的 NO 含量。与 NO 含量最低的 Al^{3+} + cPTIO 处理组相比, Al^{3+} + NO 处理组、 Al^{3+} 处理组、对照组的 NO 含量分别增加了 126.76%、81.59%、57.89%。此外,研究结果表明 Al^{3+} 处理组和对照组之间无显著性差异(图 2 - A)。由图 2 - B 可知,不同处理下茶苗茎部的 NO 含量以 Al^{3+} + NO 处理组的最高,为 21.07 $\mu\text{mol/g}$,且比对

照组(7.21 $\mu\text{mol/g}$)、 Al^{3+} 处理组(9.98 $\mu\text{mol/g}$)、 Al^{3+} + cPTIO 处理组(5.82 $\mu\text{mol/g}$)显著升高 192.23%、111.12%、262.03%。此外,发现对照、 Al^{3+} 处理和 Al^{3+} + cPTIO 处理的茎部 NO 含量无显著性差异。由图 2 - C 可知,不同处理组的茶苗叶片 NO 含量均存在显著性差异。在 Al^{3+} + NO 处理下,茶树叶片的 NO 含量为 16.36 $\mu\text{mol/g}$ 最高,并显著高于对照组(6.38 $\mu\text{mol/g}$)、 Al^{3+} 处理组(9.98 $\mu\text{mol/g}$)、 Al^{3+} + cPTIO 处理组(3.05 $\mu\text{mol/g}$)的 NO 含量。此外,与 Al^{3+} + cPTIO 处理组相比,其他 3 组的 NO 含量由高到低依次升高了 436.39%、227.21%、109.18%。

茶苗根系的 NOS 相对活性在 4 组处理之间均

具有显著性差异(图 2 - D、图 2 - E、图 2 - F)。由图 2 - D 可知,茶苗根部对照组的 NOS 相对活性最低,而 Al^{3+} + NO 处理组、 Al^{3+} 处理组、 Al^{3+} + cPTIO 处理组 NOS 相对活性与对照组相比,分别升高了 306.12%、183.68%、48.98%。由图 2 - E 可知,茶苗茎部的 NOS 相对活性在不同处理下存在显著性差异。NOS 相对活性在不同处理茎中由高到低依次为 Al^{3+} + NO 处理、 Al^{3+} 处理、 Al^{3+} + cPTIO 处理、

对照处理。与 NOS 相对活性最低的对照组相比,其余 3 组由高到低分别提高 384.85%、193.94%、90.91%。由图 2 - F 可知,茶苗叶片 NOS 相对活性在 4 组处理中存在显著性差异。叶片 NOS 相对活性由高到低依次为 Al^{3+} + NO 处理组、 Al^{3+} 处理组、 Al^{3+} + cPTIO 处理组、对照组。并且与 NOS 相对活性最低的对照组相比,其他 3 组分别提高了 282.61%、193.48%、47.83%。

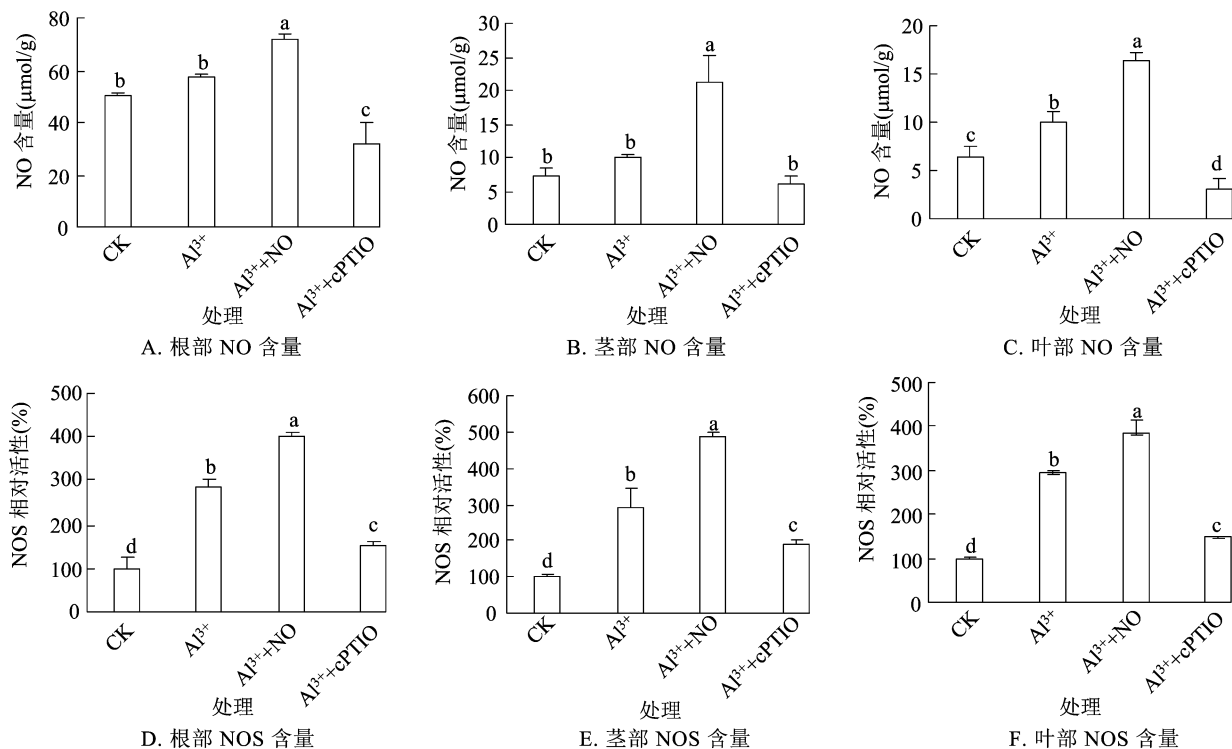


图2 不同处理下茶苗根部、茎部、叶片的 NO 含量和 NOS 活性

2.2 不同处理对茶苗各组织丙二醛及脯氨酸含量的影响

不同处理下茶苗不同组织的丙二醛(MDA)含量有一定的差异(图 3 - A、图 3 - B、图 3 - C)。由图 3 - A 可知,对照组茶苗根部的 MDA 含量为 47.04 nmol/g,与其他处理组相比含量最低; Al^{3+} + cPTIO 处理组茶苗根部 MDA 含量与对照组相比无显著性差异; Al^{3+} 处理组的 MDA 含量比对照组显著提高了 27.18%, Al^{3+} + NO 处理组的 MDA 含量最高,为 68.52 nmol/g,相比对照组显著增加 45.66%。由图 3 - B 可知,茶苗茎部的 MDA 含量在对照组中最低,为 9.71 nmol/g。 Al^{3+} + NO 处理组的 MDA 含量最高,显著高于对照组,比对照组增加约 57.96%。 Al^{3+} 处理组、 Al^{3+} + cPTIO 处理组茎部的 MDA 含量相对于对照组略有增加,但无显著性差异。

由图 3 - C 可知,不同处理下,茶苗叶片的 MDA 含量具有显著差异。其中对照组、 Al^{3+} + cPTIO 处理组的 MDA 含量相对较低,分别为 4.09、7.16 nmol/g。 Al^{3+} 处理组、 Al^{3+} + NO 处理组的 MDA 含量显著高于其他 2 组,其含量分别为 11.25、14.83 nmol/g,并且与对照组相比,MDA 含量分别升高了 175.06%、262.59%。

不同处理下茶苗根部的脯氨酸含量差异显著(图 3 - D),与根部丙二醛含量变化趋势基本相同,均为 Al^{3+} + NO 处理组的脯氨酸含量最高,对照组的脯氨酸含量最低,分别为 51.89、38.65 μg/g。 Al^{3+} 处理组、 Al^{3+} + cPTIO 处理组的脯氨酸含量也比对照组显著增加。在不同处理下,茶苗茎部的脯氨酸含量也会发生显著性变化(图 3 - E)。其中, Al^{3+} 处理组、 Al^{3+} + NO 处理组的脯氨酸含量分别为

11.22、14.32 $\mu\text{g/g}$, 显著高于对照组, 而 Al^{3+} + cPTIO 处理组的脯氨酸含量略高于对照组, 两者之间无显著性差异。由图 3-F 可知, 茶苗叶片的脯氨酸含量在不同处理下具有显著性差异。脯氨酸含量由高到低依次是 Al^{3+} + NO 处理组 (62.84 $\mu\text{g/g}$)、

Al^{3+} 处理组 (52.16 $\mu\text{g/g}$)、 Al^{3+} + cPTIO 处理组 (46.76 $\mu\text{g/g}$)、对照组 (40.27 $\mu\text{g/g}$)。与对照组相比, Al^{3+} 处理组的脯氨酸含量升高 29.53%, Al^{3+} + NO 处理组的脯氨酸含量升高了 56.05%, Al^{3+} + cPTIO 处理组的脯氨酸含量升高了 16.12%。

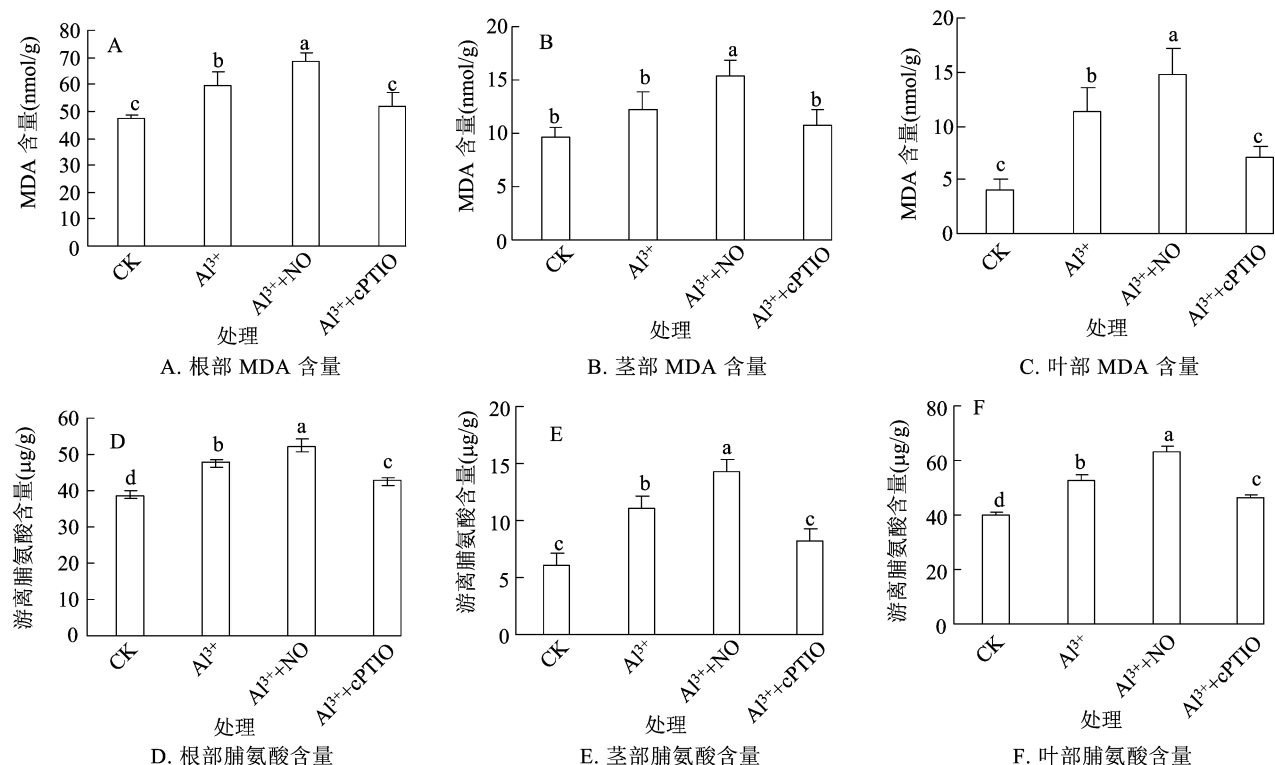


图3 茶苗根、茎、叶中MDA含量和脯氨酸含量的变化

2.3 不同处理对茶苗各组织抗氧化酶活性的影响

茶苗根系的超氧化物歧化酶活性在不同处理之间差异显著(图4-A、图4-B、图4-C)。由图4-A可知, Al^{3+} + NO 处理时茶苗根系的SOD活性最高, 其次为 Al^{3+} 处理组、 Al^{3+} + cPTIO 处理组, 对照组根系SOD活性最低。并且与对照组根部的SOD活性相比, Al^{3+} 处理组、 Al^{3+} + NO 处理组、 Al^{3+} + cPTIO 处理组的SOD活性分别升高了72.52%、113.31%、41.64%。由图4-B可知, 茶苗茎部的SOD活性在4组处理中具有一定差异, 由高到低依次为 Al^{3+} + NO 处理组(107.35 U/g)、 Al^{3+} 处理组(96.22 U/g)、 Al^{3+} + cPTIO 处理组(65.45 U/g)、对照组(60.87 U/g)。其中, Al^{3+} 处理组、 Al^{3+} + NO 处理组的SOD活性显著高于对照组、 Al^{3+} + cPTIO 处理组。 Al^{3+} 处理组、 Al^{3+} + NO 处理组与对照组相比, 显著提高了58.07%、76.36%, 而 Al^{3+} + cPTIO 处理组的SOD活性与对照组无显著性差异。由图4-C可知, 茶苗叶片的SOD活性在不同处理组间差异显著, 在

Al^{3+} + NO 处理下达到最高值145.31 U/g, 且显著高于其他3组处理的SOD活性。此外, 对照组的SOD活性最低, 为86.40 U/g。 Al^{3+} + NO 处理、 Al^{3+} 处理(121.96 U/g)、 Al^{3+} + cPTIO 处理(110.18 U/g)与对照组的SOD活性相比, 分别显著提高68.18%、41.16%、27.52%。

研究发现茶苗根系的过氧化物酶活性与SOD活性的变化趋势相同, 4组处理间均具有显著性差异(图4-D、图4-E、图4-F)。由图4-D可知, Al^{3+} + NO 处理下茶苗根系的POD活性最高, 为405.09 U/g, 相对于对照组(198.50 U/g)提高104.08%, 而 Al^{3+} 处理组(359.38 U/g)、 Al^{3+} + cPTIO 处理组(309.03 U/g)与对照组相比分别提高81.05%、55.68%。茶苗茎部的POD活性在4组处理中均具有显著性差异(图4-B)。由图4-E可知, Al^{3+} + NO 处理下的POD活性最高, 为134.84 U/g, 相比对照组(74.07 U/g)POD活性提高82.04%; Al^{3+} 处理(107.06 U/g)、 Al^{3+} + cPTIO

处理 (88.54 U/g) 比对照组分别提高 44.53%、19.53%。茶苗叶片的 POD 活性在 4 组处理中均具有显著性差异 (图 4-F)。Al³⁺ + NO 处理下的 POD 活性最高, 为 319.44 U/g, 比对照组 (196.18 U/g) 提高 62.83%。Al³⁺ 处理 (280.09 U/g)、Al³⁺ + cPTIO 处理 (243.63 U/g) 的 POD 活性也显著高于对照处理, 并且分别提高了 42.77%、24.19%。

茶苗根系的过氧化氢酶活性在 4 组处理的不同组织中均表现为 Al³⁺ + NO 处理下达到最高值 (图 4-G、图 4-H、图 4-I)。由图 4-G 可知, 根系的 CAT 活性同样也在 Al³⁺ + NO 处理下达到最高值, 并显著高于其他 3 组处理, 由高到低依次是 Al³⁺ + NO 处理组 (144.57 U/g)、Al³⁺ 处理组 (94.73 U/g)、Al³⁺ + cPTIO 处理组 (76.11 U/g)、对

照组 (48.31 U/g)。由图 4-H 可知, 茶苗茎部的 CAT 活性在 4 组处理中也均具有显著性差异, 并且在 Al³⁺ + NO 处理中达到最高值 (102.27 U/g), 比对照组 (28.75 U/g) 显著提高 255.72%。此外, Al³⁺ 处理组 (83.18 U/g)、Al³⁺ + cPTIO 处理组 (55.14 U/g) 也分别比对照显著提高了 189.32%、91.79%。由图 4-I 可知, 茶苗叶片的 CAT 活性在 4 组处理中也均具有显著性差异, 且 4 组处理中 CAT 活性从高到低依次为 Al³⁺ + NO 处理组 (128.31 U/g)、Al³⁺ 处理组 (87.66 U/g)、Al³⁺ + cPTIO 处理组 (67.63 U/g)、对照组 (40.06 U/g)。与对照组相比, 其他 3 组处理的 CAT 活性由高到低依次提高 220.29%、118.82%、68.82%。

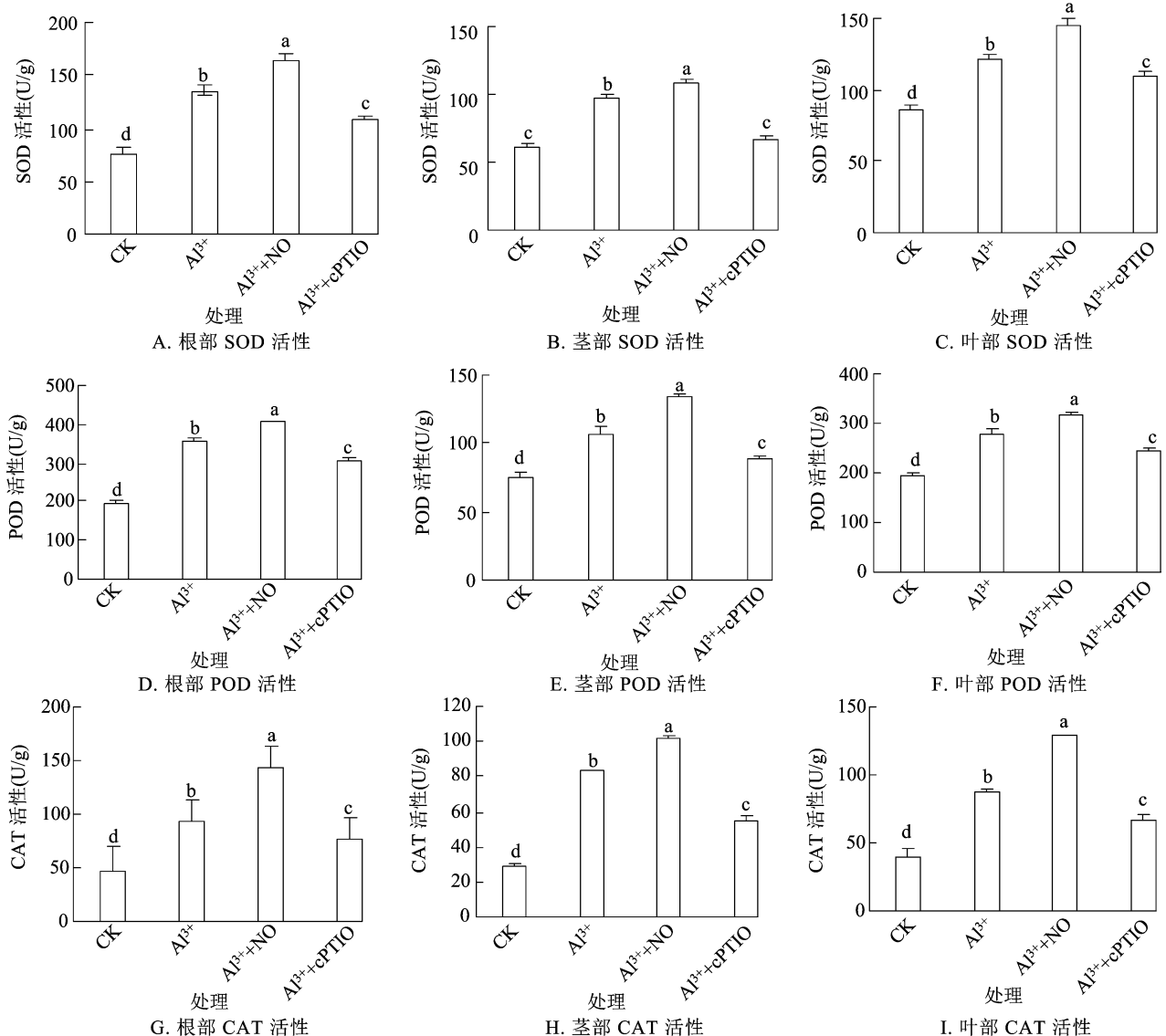


图4 茶苗根系、茎部、叶片抗氧化酶活性的变化

3 讨论与结论

观察不同处理下茶树不同组织 Al^{3+} 含量的变化,发现外源添加 Al^{3+} 促进了茶树根、茎、叶各器官的 Al^{3+} 累积。马小雪等的研究也表明,外源添加 Al^{3+} 处理可以不同程度地提高茶叶中的 Al^{3+} 含量^[17]。黄春琼等通过 Al^{3+} 胁迫处理狗牙根发现,其体内的 Al^{3+} 含量显著增加,且主要集中在根系^[18]。 Al^{3+} 首先通过抑制植物根尖细胞的伸长和细胞分裂,进而损害根系发育,使植物根系对水分和营养元素的吸收受到限制^[19-20]。本研究同样发现茶树根部的 Al^{3+} 累积量比茎、叶片的更多。此外,外源添加 NO 显著促进了茶苗各组织对 Al^{3+} 的吸收,而添加 cPTIO 均抑制了其对于 Al^{3+} 的吸收。目前有学者发现,无 Al^{3+} 施加时,外源施加 NO 对桉树根中 Al^{3+} 含量没有显著影响,而在 Al^{3+} 施加的情况下,桉树根系的 Al^{3+} 含量会随外源 NO 浓度的增加而不断增加^[21]。可见,NO 信号分子通过某种途径加重了茶树的 Al^{3+} 胁迫,而 NO 清除剂 cPTIO 则会缓解该胁迫。

NO 作为重要的信号分子,在植物种子萌发、叶片生长、根系伸长等生理过程以及生物和非生物胁迫下的病理过程中具有不同的功能^[22]。植物在受到生物或非生物胁迫时,均伴随着 NO 的产生和 NOS 活性的增加。研究表明,超声波能诱导紫杉细胞积累 H_2O_2 和启动程序性死亡,此过程可被 NO 供体 SNP 加强,而被 NO 清除剂 cPTIO 和 NOS 清除剂 L-NNA 部分阻断^[23]。外源添加 NO 释放剂确实能大幅度提升茶苗不同组织的 NO 含量,NOS 的活性也得到显著提高;而添加 cPTIO 会降低不同器官内的 NO 含量,同时也降低了 NOS 的活性。但在单独 Al^{3+} 处理下,除茶苗叶片的 NO 含量比对照显著增加外,根和茎的 NO 含量增加量不显著;NOS 活性则在不同组织内均有显著提高,这也表明 NO 含量的升高部分依赖于 NOS 活性的提高。同时说明,单独 Al^{3+} 处理虽然显著影响了 NOS 活性,但只有茶苗叶片 NO 含量有显著性变化,几乎不影响茶苗根和茎的 NO 含量;反而是增加 NO 提高了 NOS 活性的同时,茶苗 Al^{3+} 含量增加,使得茶苗遭受的 Al^{3+} 胁迫加重,因此推测 NO 通过某种途径影响了 Al^{3+} 对茶树的胁迫作用。

植物对铝毒性的反应之一是氧化应激,这会导致植物的质膜脂质过氧化,丙二醛是膜脂过氧化的

终产物,其含量高低可以反映植物细胞在胁迫中受损害的程度^[24-25]。疏再发研究发现,当 Al^{3+} 浓度大于 0.4 mmol/L 时,茶树叶片的 MDA 含量随 Al^{3+} 浓度的增加而显著增加^[26]。低浓度的铝处理有利于茶树的生长,可以降低茶树叶片的 MDA 含量,但高浓度的铝处理则增加了 MDA 含量^[5]。本研究发现,不仅茶苗叶片的 MDA 含量在 Al^{3+} 处理下显著升高,其茎部和根系的 MDA 含量也在添加外源 Al^{3+} 处理后增加。同时,发现 $\text{Al}^{3+} + \text{NO}$ 处理下,茶树根系、茎部、叶片的 MDA 含量较 Al^{3+} 处理显著增加。这与周圆的研究结果一致,即与单一铝处理相比,外源添加 NO 会使饭豆的 MDA 含量进一步升高^[27]。这表明 NO 信号分子对 Al^{3+} 胁迫有正向调控作用,也意味着清除 NO 能够有效缓解外源 Al^{3+} 对茶树细胞膜脂的氧化损伤。此外,脯氨酸作为植物逆境胁迫的产物,在逆境胁迫下植物体内游离脯氨酸的增加是一个普遍现象,并且脯氨酸的增加有利于植物对逆境胁迫的抵抗,从而在一定条件下增强植物对环境的适应性^[28]。已有研究发现铝处理茶树的游离脯氨酸积累浓度是对照含量的 2 倍^[29]。与本试验的结果一致,外源添加 Al^{3+} 会导致茶苗不同组织的游离脯氨酸含量增加,并且外源添加 NO 能够导致脯氨酸含量再度上升,而外源添加 cPTIO 能够降低脯氨酸的含量。脯氨酸含量的多少在一定程度上反映了植物的抗逆性,因此茶苗能通过积累游离脯氨酸减轻 Al^{3+} 毒害,提高其耐铝性。

植物体内的 SOD、POD、CAT 活性增加是植物应对外界环境变化时的一种应急解毒措施^[30],可以缓解逆境对植物细胞的伤害。已有研究表明, Al^{3+} 浓度在 0 ~ 0.4 mmol/L 范围内,茶树根系的 SOD、CAT、POD 等酶活性均显著提高^[31]。黄丹娟等发现,茶树在铝处理时抗氧化系统的变化一般是提高保护酶的活性,以清除代谢过程中产生的活性氧自由基等毒害物质^[32]。本试验同样发现外源添加 Al^{3+} 显著提高了茶树各组织的抗氧化酶活性,并且发现添加 cPTIO 能够有效减轻铝对茶树细胞的伤害,因此 $\text{Al}^{3+} + \text{cPTIO}$ 处理虽然降低了茶树的抗氧化酶活性,但足以应对 Al^{3+} 胁迫对茶苗带来的氧化损伤。

综上所述, Al^{3+} 胁迫对茶苗累积 NO 的影响小,但 NO 水平明显可以通过调控茶苗在 Al^{3+} 胁迫下茶树的 Al^{3+} 累积、膜脂过氧化程度等介导植株铝积累,加重 Al^{3+} 毒害。cPTIO 则可以在减少 NO 水平

的同时减少植株的 Al^{3+} 累积。因此,可以考虑通过降低茶树生长环境中的 NO 而缓解 Al^{3+} 胁迫对植物的不利影响,但 NO 清除剂缓解茶树 Al^{3+} 胁迫的机制仍待进一步研究。

致谢:感谢马月花老师对多功能酶标仪及张盼盼老师对微波消解系统仪器(南京农业大学园艺学院中心实验室)使用的帮助。

参考文献:

- [1] Kochian L V. Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants[J]. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology,1995,46:237 – 260.
- [2] Matsumoto H, Hirasawa E, Morimura S, et al. Localization of aluminium in tea leaves[J]. Plant and Cell Physiology,1976,17(3):627 – 631.
- [3] Sun L L, Zhang M S, Liu X M, et al. Aluminium is essential for root growth and development of tea plants (*Camellia sinensis*) [J]. Journal of Integrative Plant Biology,2020,62(7):984 – 997.
- [4] 王 敏, 宁秋燕, 石元值. 茶树幼苗对不同浓度铝的生理响应差异研究[J]. 茶叶科学,2017,37(4):356 – 362.
- [5] 罗 亮, 谢忠雷, 刘 鹏, 等. 茶树对铝毒生理响应的研究[J]. 农业环境科学学报,2006,25(2):305 – 308.
- [6] 徐圆圆, 陆明英, 蒋维昕, 等. 铝胁迫下不同耐铝型桉树无性系根和叶抗氧化特征的差异[J]. 浙江农林大学学报,2016,33(6):1009 – 1016.
- [7] 于翠平, 潘志强, 陈 杰, 等. 铝对茶树生长与生理特性影响的研究[J]. 植物营养与肥料学报,2012,18(1):182 – 187.
- [8] 黄 媛, 段小华, 胡小飞, 等. 模拟酸雨和铝调控对茶叶主要化学品质与铝积累的影响[J]. 热带亚热带植物学报,2011,19(3):254 – 259.
- [9] 蓬苗苗, 陈银萍, 苏向楠, 等. 镉胁迫下紫花苜蓿幼苗内源一氧化氮和活性氧的生成[J]. 广西植物,2016,36(12):1483 – 1491,1482.
- [10] Shao R X, Wang K B, Shangguan Z P, et al. Cytokinin – induced photosynthetic adaptability of *Zea mays* L. to drought stress associated with nitric oxide signal: probed by ESR spectroscopy and fast OJIP fluorescence rise[J]. Journal of Plant Physiology,2010,167(6):472 – 479.
- [11] Wang Y S, Yang Z M. Nitric oxide reduces aluminum toxicity by preventing oxidative stress in the roots of *Cassia tora* L. [J]. Plant and Cell Physiology,2005,46(12):1915 – 1923.
- [12] Zhang H, Li Y H, Hu L Y, et al. Effects of exogenous nitric oxide donor on antioxidant metabolism in wheat leaves under aluminum stress[J]. Russian Journal of Plant Physiology,2008,55(4):469 – 474.
- [13] Wang H H, Huang J J, Bi Y R, et al. Nitrate reductase – dependent nitric oxide production is involved in aluminum tolerance in red kidney bean roots[J]. Plant Science,2010,179(3):281 – 288.
- [14] Ghanati F, Morita A, Yokota H. Effects of aluminum on the growth of tea plant and activation of antioxidant system[J]. Plant and Soil,2005,276(1/2):133 – 141.
- [15] Wang Y H, Li X C, Zhu G Q, et al. Nitric oxide participates in cold – inhibited *Camellia sinensis* pollen germination and tube growth partly via cGMP *in vitro* [J]. PLoS One,2012,7(12):e52436.
- [16] 李合生. 植物生理生化试验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000.
- [17] 马小雪, 肖 斌, 闫列娟, 等. 不同酸度下外源铝对茶叶铝含量及品质的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2012,40(11):187 – 191,196.
- [18] 黄春琼, 陈 振, 崔蓉蓉, 等. 铝胁迫对狗牙根种质资源营养元素吸收的影响[J]. 热带作物学报,2020,41(6):1092 – 1099.
- [19] Jones D L, Kochian L V. Aluminum inhibition of the inositol 1,4,5 – trisphosphate signal transduction pathway in wheat roots: a role in aluminum toxicity? [J]. The Plant Cell,1995,7(11):1913 – 1922.
- [20] Barceló J, Poschenrieder C. Fast root growth responses, root exudates, and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminium toxicity and resistance: a review[J]. Environmental and Experimental Botany,2002,48(1):75 – 92.
- [21] 侯文娟. 外源磷和一氧化氮施加对桉树幼苗铝胁迫的调控[D]. 南宁:广西大学,2016.
- [22] Singh N, Bhatla S C. Nitric oxide and iron modulate heme oxygenase activity as a long distance signaling response to salt stress in sunflower seedling cotyledons[J]. Nitric Oxide,2016,53:54 – 64.
- [23] Wang J W, Zheng L P, Wu J Y, et al. Involvement of nitric oxide in oxidative burst, phenylalanine ammonia – lyase activation and *Taxol* production induced by low – energy ultrasound in *Taxus yunnanensis* cell suspension cultures[J]. Nitric Oxide,2006,15(4):351 – 358.
- [24] 朱利君, 苏智先, 胡进耀, 等. 珍稀濒危植物珙桐过氧化物酶活性和丙二醛含量[J]. 生态学杂志,2009,28(3):451 – 455.
- [25] 郑开敏, 肖家昶, 马俊英, 等. 柠檬酸对铝胁迫下豆瓣菜生长及生理的影响[J]. 江苏农业学报,2022,38(2):476 – 485.
- [26] 疏再发. 根系有机酸和细胞壁果胶甲酯化参与茶树耐铝/解铝毒机制的研究[D]. 南京:南京农业大学,2016.
- [27] 周 圆. 一氧化氮和根系分泌物在植物铝毒害和耐铝机制中的作用[D]. 杭州:浙江大学,2012.
- [28] 鲍雅静, 季 静, 王 迪, 等. 不同品种金银花叶片中脯氨酸对盐胁迫的响应[J]. 安徽农业科学,2011,39(8):4502 – 4503.
- [29] Hajiboland R, Bahrani Rad S, Barceló J, et al. Mechanisms of aluminum – induced growth stimulation in tea (*Camellia sinensis*) [J]. Journal of Plant Nutrition and Soil Science,2013,176(4):616 – 625.
- [30] 徐勤松, 施国新, 周红卫, 等. Cd/Zn 复合污染对水车前叶绿素含量和活性氧清除系统的影响[J]. 生态学杂志,2003,22(1):5 – 8.
- [31] Mukhopadhyay M, Bantawa P, Das A, et al. Changes of growth, photosynthesis and alteration of leaf antioxidative defence system of tea [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze] seedlings under aluminum stress[J]. BioMetals,2012,25(6):1141 – 1154.
- [32] 黄丹娟, 毛迎新, 陈 勋, 等. 茶树富集铝的特点及耐铝机制研究进展[J]. 茶叶科学,2018,38(2):125 – 132.