

茶多酚和钙离子添加对茶树叶片铅吸收和亚细胞分布的影响

葛高飞, 沈旭松, 陈诺, 王琴, 许阳

引用本文:

葛高飞, 沈旭松, 陈诺, 王琴, 许阳. 茶多酚和钙离子添加对茶树叶片铅吸收和亚细胞分布的影响[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(8): 1682–1688.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-1473>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

钙多肽对水稻吸收重金属铅的影响

杨升, 毛文凌, 吴红红, 刘紫薇, 姚伦广, 汤行春, 李亚东

农业环境科学学报. 2021, 40(7): 1411–1419 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0022>

铅胁迫对金丝草AsA-GSH循环及铅积累的影响

韩航, 陈顺钰, 赵雅曼, 侯晓龙, 蔡丽平, 刘爱琴, 周垂帆

农业环境科学学报. 2018, 37(4): 656–664 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-1523>

镉在黄瓜幼苗中的化学形态及亚细胞分布

闫雷, 朱园辰, 陈辰, 张思佳, 丁宫尧, 喇乐鹏, 曲娟娟

农业环境科学学报. 2019, 38(8): 1864–1871 <https://doi.org/10.11654/jaes.2019-0395>

褐煤基材料对石灰性土壤铅镉生物有效性的影响

丁满, 杨秋云, 化党领, 宋晓燕, 暴秀丽, 王代长, 刘世亮

农业环境科学学报. 2017, 36(4): 678–685 <https://doi.org/10.11654/jaes.2016-1319>

RNA-Seq定量分析盐肤木对铅胁迫的响应

夏丽丹, 张虹, 胡华英, 曹升, 周垂帆

农业环境科学学报. 2019, 38(7): 1459–1467 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-1571>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

葛高飞, 沈旭松, 陈诺, 等. 茶多酚和钙离子添加对茶树叶片铅吸收和亚细胞分布的影响[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(8): 1682–1688.

GE G F, SHEN X S, CHEN N, et al. Effects of tea polyphenols and calcium ions on absorption and subcellular distribution of lead in tea leaves[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2022, 41(8): 1682–1688.



开放科学 OSID

茶多酚和钙离子添加对茶树叶片铅吸收和亚细胞分布的影响

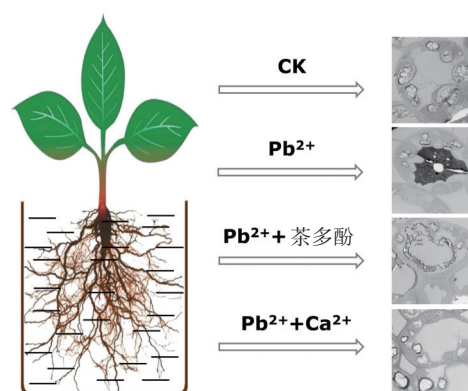
葛高飞¹, 沈旭松², 陈诺², 王琴¹, 许阳¹

(1. 安徽农业大学生物技术中心, 合肥 230036; 2. 安徽农业大学资源与环境学院, 合肥 230036)

摘要:为研究铅胁迫下添加茶多酚和钙离子对茶树叶片铅吸收和亚细胞分布的影响,通过水培试验,结合差速离心法和扫描透射电镜技术研究舒茶早茶树叶片铅吸收特性及铅的亚细胞分布,并比较茶多酚和钙离子两种不同添加剂对茶树叶片铅吸收和亚细胞分布影响的差异。结果表明:铅胁迫显著增加茶树叶片中铅的含量,显著降低钙的含量。茶多酚添加后,茶树叶片铅含量显著降低 30.89%,钙含量显著增加 11.10%;添加钙离子对茶树叶片铅含量无显著影响,但使钙的含量显著增加了 34.57%。铅被茶树吸收后,茶树叶片表面和气孔周围褶皱度增加,铅沉积于液泡内,造成细胞器的损伤;茶多酚和钙离子的添加减轻了铅对叶片细胞的伤害程度。铅在茶树叶片亚细胞组分中的分布顺序依次是细胞壁、细胞质和液泡、质体和叶绿体、线粒体。研究表明,茶多酚主要通过减少铅的吸收量来缓解茶树叶片的铅毒害作用,钙离子主要通过改变铅在茶树叶片细胞不同组分中的含量(增加细胞壁对铅的截留、降低细胞内铅的含量)来缓解重金属铅对茶树叶片细胞的伤害。

关键词: 铅; 茶多酚; 钙离子; 茶树叶片; 亚细胞分布

中图分类号: X173 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2022)08-1682-07 doi:10.11654/jaes.2021-1473



Effects of tea polyphenols and calcium ions on absorption and subcellular distribution of lead in tea leaves

GE Gaofei¹, SHEN Xusong², CHEN Nuo², WANG qin¹, XU Yang¹

(1. Biotechnology Center of Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China; 2. School of Resources and Environment, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

Abstract: Hydroponic experiments combined with differential centrifugation and electron microscopy were used to study the characteristics and subcellular distribution of lead absorption in Shuchazao tea leaves under lead stress. Differences in the absorption and subcellular distribution of lead in tea leaves were compared after tea polyphenol and calcium ion addition. Lead stress significantly increased the lead content and decreased the calcium content in tea leaves. After the addition of tea polyphenols, the lead content in tea leaves decreased significantly and the calcium content increased significantly; the reduction rate of lead and increase rate of calcium were 30.89% and 11.10%, respectively. The addition of calcium ions had no significant effect on the lead content in tea leaves, but significantly increased the

收稿日期: 2021-12-21 录用日期: 2022-03-05

作者简介: 葛高飞(1980—), 安徽宿州人, 博士, 副研究员, 主要从事土壤环境生态学研究。E-mail: gegaofei@ahau.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金青年项目(41401278); 安徽省高校自然科学基金重点项目(KJ2018A0149); 安徽省自然科学基金面上项目(2008085MC97)

Project supported: The Young Scientists Fund of the National Natural Science Foundation of China(41401278); Key Project of the Natural Science Foundation of the Higher Education Institutions of Anhui Province(KJ2018A0149); General Project of the Natural Science Foundation of Anhui Province(2008085MC97)

calcium content under lead stress, with an increase rate of 34.57%. The absorption of lead by tea plants increased the folds on the surface of leaves and around stomata, and lead was deposited in vacuoles, causing damage to organelles. The addition of tea polyphenols and calcium ions reduced cell damage due to lead stress. The distribution order of lead in the subcellular components of tea leaves was cell wall, cytoplasm and vacuole, plastid and chloroplast, and mitochondria. Tea polyphenols primarily alleviate the lead toxicity of tea leaves by reducing lead absorption, and calcium ions alleviate the toxic effect of lead on tea leaf cells by altering the lead content in different components of tea leaf cells (increasing the interception of lead by the cell wall and reducing the lead content in cells).

Keywords: lead; tea polyphenols; calcium ion; tea leaves; subcellular distribution

我国的茶叶生产历史悠久,消费者众多,茶产业为我国创造了巨大的经济效益,在国民经济和国际贸易中一直占有重要地位。土壤是茶树生长的基础,显著影响茶叶的产量和品质,优质安全的茶叶离不开健康的土壤环境和合理的人为管理。近几年,我国茶产业的发展迅速且平稳,但茶叶的安全质量问题仍是制约其发展的瓶颈之一,其中茶叶和茶园土壤的重金属污染现象一直存在且广受关注。茶叶是我国的大宗农产品之一,由于工业废弃物排放及化肥农药使用的不当,茶叶中的重金属污染日趋加重,严重影响了茶树生长及茶叶品质^[1]。目前我国尚未对茶园土壤中重金属的种类和含量做过系统调查,但区域性的调查研究结果表明,重金属铅在茶叶中的超标率较为普遍^[2],目前茶叶中铅的限量标准为 $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (GB 2762—2017)。

茶多酚在茶叶中的含量很高(18%~36%),且大部分溶于水,是茶园土壤多酚的主要来源^[3]。茶多酚可通过络合作用与无机盐类物质发生反应,降低无机元素的生物有效性。大量研究表明,茶多酚对生物的重金属胁迫效应具有缓解作用^[4-7]。有研究发现,在酸性条件下, Pb^{2+} 可以与茶多酚产生大量络合物,从而降低铅的生物有效性,缓解茶树植株的铅毒害症状^[2]。也有研究发现,添加外源钙对处于逆境胁迫下的植物有重要缓解作用,通过钙信使系统可提高植物对重金属、干旱、高温、低温、盐胁迫等逆境的抵抗能力^[8-13]。钙离子可以增加细胞壁的稳定性和降低细胞膜透性,从而降低重金属对植物的毒害作用^[14]。虽然茶多酚与多数金属离子均可产生沉淀状态的络合物,但其与 Ca^{2+} 只有在pH 8.5以上时才会产生大量络合物^[2]。因此,茶园土壤中的钙不会与茶多酚形成络合物而降低其生物有效性。

为比较添加茶多酚与钙对茶树叶片铅毒害的缓解效果,本研究通过水培试验,以舒茶早茶苗为材料,研究铅胁迫下添加茶多酚和钙对茶树叶片铅吸收和亚细胞分布的影响,研究结果可为茶多酚功能的合理

利用提供理论基础,同时也为茶树铅污染的诊断与防治提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

供试茶树品种为舒茶早,采自安徽省黄山市苗木基地,为两年生扦插苗。先将茶树苗根系上的土壤用自来水冲洗干净,再用超纯水清洗3次。将茶树苗栽植于塑料盆钵(高30 cm、内径25 cm)中,用1/2霍格兰营养液预培养1周,再转移至完全营养液中,培养期间通氧泵连续通气,每5 d更换一次营养液,调节pH值至6.0,培养约两个月,茶树苗根部长出部分白色吸收根后进行试验处理。

选择长势良好且生长一致的茶树植株,设置4个处理,即对照(CK)、铅处理(Pb , $0.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 铅)、铅+茶多酚处理($\text{Pb}+\text{TP}$, $0.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 铅+ $0.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 茶多酚)和铅+钙离子处理($\text{Pb}+\text{Ca}$, $0.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 铅+ $0.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 钙离子),铅以硝酸铅的形式加入,钙源为分析纯氯化钙,每个试验处理3个盆钵,每个盆钵定植4株茶树苗。培养处理30 d,期间用通气泵连续通气,每5 d更换一次营养液,用 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HCl或NaOH调节pH值至6.0。茶树苗收获后,先用自来水冲洗整株茶苗,然后用超纯水清洗干净,吸水纸吸干表面水分,分别称取质量。取成熟叶(第4片真叶)鲜叶用于扫描和透射电镜观察,剩余成熟叶(第4~6片真叶)于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存用于元素含量及亚细胞分布分析。

1.2 测定方法

1.2.1 茶树叶片铅和钙含量的测定

称取 0.200 g 茶树成熟叶片烘干样,用 $\text{HNO}_3\text{--HClO}_4$ (4:1)消解,先在 $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右预煮1 h,然后在 $160\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下消煮至澄清, $180\text{ }^{\circ}\text{C}$ 赶酸至尽干(呈湿润状态,无明显液体残留),用1%的稀 HNO_3 定容至25 mL容量瓶,溶液摇匀后过 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 的水系滤膜后待测。铅和钙的含量利用电感耦合等离子体发射光谱仪(Thermo iCAP7400 DUO)测定,再计算得到茶树叶片

中铅和钙的含量。

1.2.2 茶树叶片亚细胞组分分离及铅的测定

茶树叶片亚细胞各组分分离采用差速离心法^[15-16]。准确称取成熟叶鲜样 0.500 0 g, 加入 20 mL 细胞组分提取液[0.25 mol·L⁻¹蔗糖+50 mmol·L⁻¹ Tris-HCl 缓冲液(pH 7.5)+1 mmol·L⁻¹二硫赤藓糖醇], 研磨茶树叶片并匀浆, 冷冻离心机 600 r·min⁻¹下运行 5 min, 沉淀为茶树叶片细胞壁组分(F1); 上清液于 2 000 r·min⁻¹下运行 15 min, 沉淀为茶树叶片的细胞核和叶绿体组分(F2); 上清液于 10 000 r·min⁻¹下运行 20 min, 沉淀为茶树叶片线粒体组分(F3); 剩余上清液为茶树叶片的细胞膜、细胞质和液泡等可溶性组分(F4)。匀浆和提取操作在冰盒内进行。茶叶叶片样品及其各亚细胞组分采用 HNO₃-HClO₄ 混合消化, 铅含量直接用电感耦合等离子体质谱仪(Thermo X SERIES 2)测定。

1.2.3 扫描电镜分析

取铅胁迫 30 d 的茶树苗, 用自来水和超纯水将茶树植株冲洗干净, 切取完整的成熟叶片(第 4 片真叶)中部(避开叶脉)4 mm×4 mm, 用磷酸缓冲液(0.1 mol·L⁻¹)清洗干净后, 快速置于盛有 5% 戊二醛固定液的离心管中固定 12 h, 并用真空泵抽气使茶树叶片下沉到离心管底部(以保证叶片组织完全没入戊二醛固定液中), 期间加入 1% 的 Na₂S 溶液, 使茶树叶片组织中的铅元素凝结。用磷酸缓冲液冲洗 3 次, 再分别使用 50%、70%、80%、90%、95% 和 100% 的酒精溶液逐级脱水, 每次 15 min。再经 100% 丙酮置换 2 次, 每次 15 min。二氧化碳临界点干燥后镀金, 用 Hitachi S4800 型扫描电镜在 1.0 kV 的加速电压下观察、拍照。

1.2.4 透射电镜分析

取清洗干净的茶树苗, 切取完整的成熟叶片(第 4 片真叶)中部(避开叶脉)2~3 cm, 快速将茶树叶片组织投入 5% 的戊二醛固定液(0.1 mol·L⁻¹的磷酸缓冲溶液配制, pH 6.8)中, 在 4 ℃ 黑暗条件下固定 18 h。固定后的叶片在 0.1 mol·L⁻¹磷酸缓冲溶液(pH 6.8)中清洗 3 次, 每次 15 min。转移茶树叶片组织至 1% 的锇酸(0.1 mol·L⁻¹磷酸缓冲溶液配制, pH 6.8)中 1.5 h, 分别使用 30%、50%、70%、80%、90% 和 95% 的酒精溶液逐级脱水, 每次 15 min, 再用 100% 的酒精脱水 2 次, 每次 10 min。经 100% 的丙酮置换 2 次, 每次 15 min。丙酮与包埋剂 1:1 比例渗透处理 1 h, 1:3 比例渗透处理 3 h, 纯包埋剂过夜, 然后纯包埋剂制作胶囊。胶囊置于 70 ℃ 烘箱处理 24 h, 然后用超薄切片

机切片(厚度 100 nm), 分别用醋酸双氧铀染色 20 min、柠檬酸铅染色 15 min。茶树叶片组织结构的改变及铅的分布特征观察采用透射电镜(Hitachi HT7700), 在 80 kV 的加速电压条件下完成。

1.3 数据处理

数值均为 3 次重复的平均值, 使用 Excel 2017 制图。应用 SPSS 22.0 软件进行单因素方差分析(One-way ANOVA), 采用 LSD 法进行多重比较, $P < 0.05$ 表示差异显著。

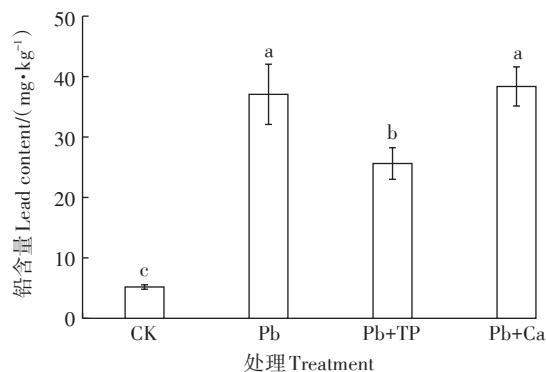
2 结果与分析

2.1 添加剂对茶树叶片铅和钙吸收的影响

如图 1 所示, 铅胁迫显著增加了茶树叶片对铅元素的吸收。茶多酚添加后, 茶树叶片对铅的吸收量显著降低, Pb+TP 处理的铅含量降为 Pb 处理的 69.11%; 添加钙离子后, 茶树叶片对铅的吸收无显著变化。Pb 处理显著降低了茶树叶片对钙元素的吸收(图 2), 与 CK 相比, 钙含量降低了 27.97%; 添加茶多酚后茶树叶片钙含量较 Pb 处理增加了 11.10%, 但仍显著低于 CK; 铅胁迫下加入钙离子, 显著增加了茶树叶片对钙元素的吸收, Pb+Ca 处理的钙含量是 Pb 处理的 1.35 倍, 钙含量增加了 34.57%; Pb+Ca 处理与 CK 处理茶树叶片钙含量无显著差异。

2.2 添加剂对茶树叶片细胞形态的影响

利用扫描电镜观察茶树叶片表面形态, 结果如图 3 所示。与 CK 相比, Pb 处理条件下的茶树叶片表面和气孔周边有较多褶皱。Pb+TP 处理的叶片表面褶皱较 Pb 处理少, 气孔周边的褶皱较浅。Pb+Ca 处理的叶片表面光滑, 气孔周边褶皱较浅, 与 CK 处理的叶



不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)。下同
Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$). The same below

图1 不同处理的茶树叶片铅含量

Figure 1 Lead content of different treatments in tea leaves

片表面形态较为相似。

利用透射电镜观察茶树叶片内部细胞形态,具体如图4和图5。CK处理的茶树叶片细胞内部形态健康正常;Pb处理的茶树叶片细胞的液泡内存在较多黑色物质沉积,细胞器较小,部分细胞器消失;Pb+TP处理的茶树叶片细胞液泡内也有物质沉积,且细胞器呈萎缩状态,但程度轻于Pb处理;Pb+Ca处理的茶树叶片细胞内的细胞器无明显萎缩现象,液泡内有少量的黑色物质沉积,细胞壁较其他3个处理更厚,细胞壁和细胞器边缘有少量黑色物质沉积,细胞质和细胞核颜色较深,细胞内部整体形态与CK处理较为相似。Pb和Pb+TP处理的细胞,因液泡内黑色物质沉积显著,细胞器、细胞质和细胞壁的颜色相对较浅,观察不到明显的黑色物质沉积。

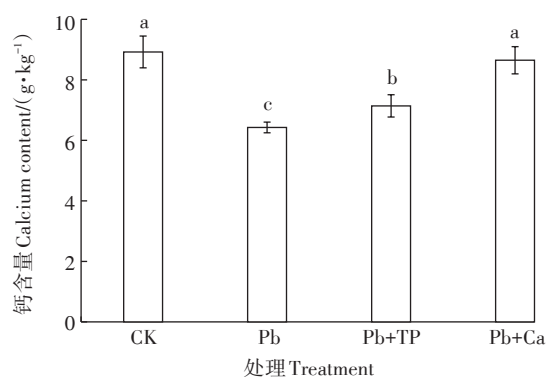


图2 不同处理的茶树叶片钙含量

Figure 2 Calcium content of different treatments in tea leaves

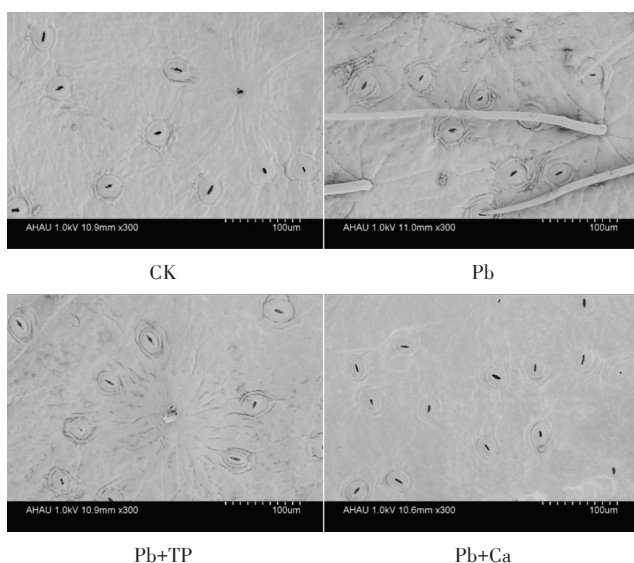


图3 茶树叶片的扫描电镜图(×300倍)

Figure 3 Scanning electron microscopy(SEM) of tea leaves (×300 times)

2.3 添加剂对茶树叶片亚细胞组分中铅分布的影响

图6和图7是铅在茶树叶片亚细胞中的分布情

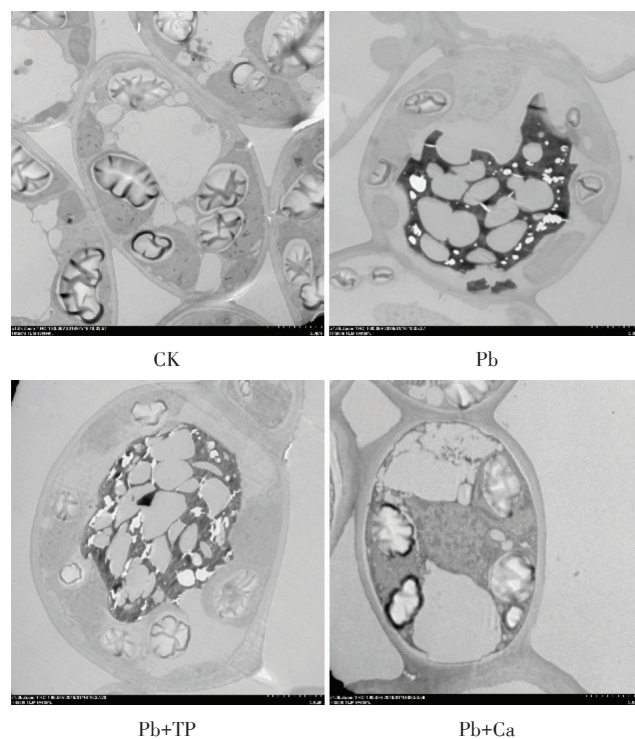


图4 茶树叶片的单细胞透射电镜图(×1 000倍)

Figure 4 Transmission electron microscope(TEM) of single cell in tea leaves(×1 000 times)

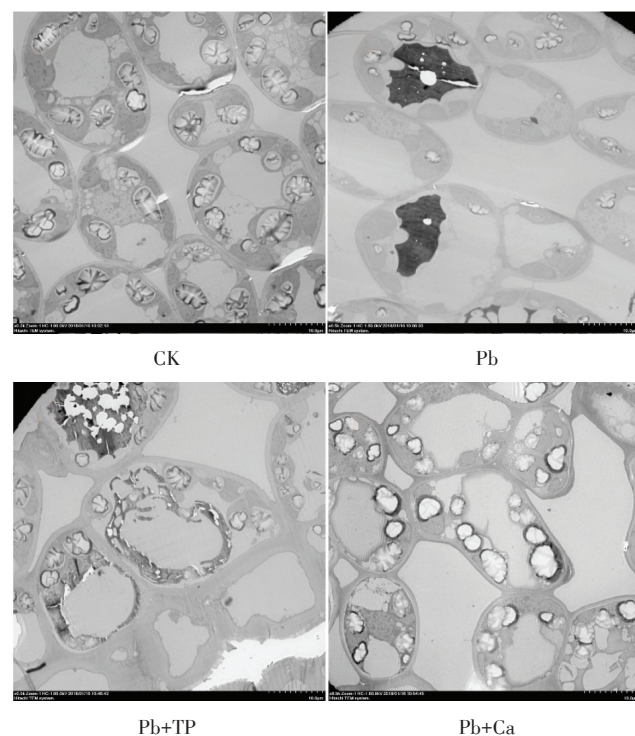


图5 茶树叶片的多细胞透射电镜图(×500倍)

Figure 5 Transmission electron microscope(TEM) of multiple cells in tea leaves(×500 times)

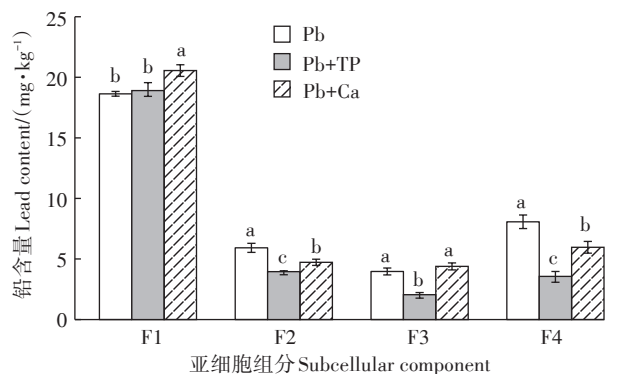
况,从图中可以看出,铅在茶树叶片亚细胞的分布情况与透射电镜观察的黑色物质沉积规律一致,因此透射电镜观察到的黑色物质即为铅在茶树叶片细胞内的沉积。Pb处理的铅元素在茶树叶片细胞壁中含量最高,其次是在细胞质和液泡内的可溶性部分中,细胞器中含量相对较低;F1和F4组分占总量的72.98%。添加茶多酚后,铅元素在茶树叶片细胞壁中的含量升高,但与Pb处理相比差异不显著,铅元素在细胞器中的含量显著减少,在细胞质和液泡中的可溶性铅含量也显著减少;F1和F4组分占总量的78.90%。铅胁迫下添加钙离子,铅元素在茶树叶片细胞壁中的含量显著高于Pb和Pb+TP处理;铅元素在线粒体中的含量有所增加,显著高于Pb+TP处理,与Pb处理差异不显著;铅元素在细胞质和液泡中的含量显著低于Pb处理,但显著高于Pb+TP处理;F1和

F4组分占总量的74.43%。

3 讨论

铅胁迫下,茶树叶片对铅的吸收显著增加,对钙的吸收显著降低,说明铅胁迫对茶树叶片吸收钙具有一定的抑制作用,这与陈国梁等^[17]的研究结果一致。茶多酚加入后,茶树叶片对铅的吸收显著降低,对钙的吸收显著增加。DUAN等^[18]研究发现,土壤中添加茶多酚后,其与土壤中的铅离子结合,使生物有效铅转化为有机铅。周琪等^[6]的细胞实验结果也表明,茶多酚可通过络合作用来降低重金属离子的生物毒性,提高细胞的生存率。茶多酚的加入使一部分铅被络合而钝化,茶树叶片吸收的铅量显著降低(图1),铅胁迫对钙吸收的抑制作用减小,因此茶树叶片吸收的钙量相对增加。氯化钙加入后,茶树对铅的吸收无显著变化,但显著增加了钙的吸收。说明钙离子的加入并不能抑制茶树对铅的吸收,只是增加了茶树叶片对钙离子的吸收利用。这可能是因为刚开始进行Pb+Ca处理时茶树叶片对铅和钙元素的吸收存在竞争机制,随着培养时间的延长,植物细胞中钙含量增加,植物细胞对铅的抗性增加,细胞壁对铅的容纳能力增加,因此铅的吸收总量会缓慢增加,最终Pb+Ca处理的茶树叶片铅含量与Pb处理差异不显著。薛艳等^[19]的研究发现钙离子通道抑制剂显著抑制了芦蒿根部对镉的吸收,但对铅的吸收无显著的抑制作用,可能是因为芦蒿对镉的吸收通过钙离子通道进行,对铅的吸收则不通过钙离子通道进行。这与本研究的结果一致,说明茶树叶片对铅的吸收可能不是通过钙离子通道进行。

铅在茶树叶片中的亚细胞分布情况与透射电镜观察的茶树叶片细胞内黑色沉积的部位较为一致,表明铅胁迫下铅元素主要分布在细胞壁和以液泡为主的细胞液中,这一结果与已有报道^[20-22]一致。细胞壁是外界物质进入细胞的初始屏障,细胞壁中的负电荷基团与带正电荷的重金属离子络合形成沉淀,减少了重金属的运移^[23-24]。此外,细胞壁中的大分子物质(果胶、纤维素和木质素等)也对重金属离子具有较强的络合作用,可减少重金属离子的跨膜运输,降低细胞内部重金属离子的含量和浓度,保证了植物细胞能够进行正常的生理代谢^[25-27]。铅离子的半径较大,配位能力较弱,不易透过细胞壁和质膜进入细胞液,茶树叶片细胞对铅的吸收主要是通过细胞壁吸附和非共质体沉积等方式,当细胞壁的结合量达到饱和后铅元素才开始透过细胞壁和质膜进入细胞内部^[28],并与



F1、F2、F3、F4 分别代表茶树叶片细胞的细胞壁、细胞核和叶绿体、线粒体、可溶性组分。下同

F1, F2, F3, and F4 represent the cell wall, nucleus and chloroplast, mitochondria, and soluble components of tea leaf cells, respectively.

The same below

图6 不同处理的茶树叶片铅亚细胞分布

Figure 6 The subcellular distribution of lead in tea leaves under lead stress

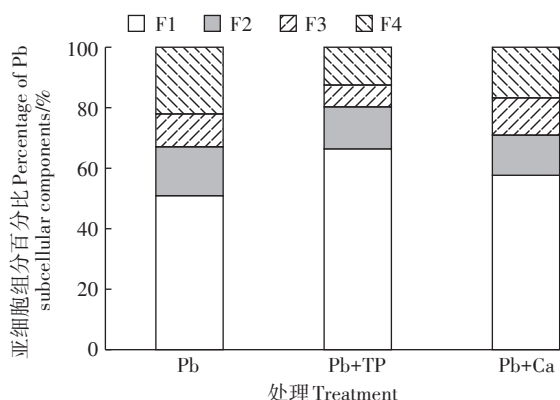


图7 茶树叶片铅的亚细胞分布

Figure 7 The subcellular distribution of lead in tea leaves

细胞液中的有机酸络合,以减轻重金属铅对植物叶片细胞的毒害^[29],因此铅胁迫下液泡内有大量铅沉积。赵腾飞等^[30]研究发现铅胁迫使小麦幼苗细胞的膜透性显著增加,外源钙使细胞的膜透性相对降低,使铅对小麦幼苗细胞的毒害作用有所缓解。肖细元等^[14]通过研究砷胁迫下蜈蚣草对钙的吸收指出,钙在细胞中的含量增多并主要分布在细胞壁中,其增加了细胞壁的稳定性,维持了细胞的正常结构和功能,提高了蜈蚣草对砷胁迫的耐受力。茶树叶片细胞壁中铅的含量表现为Pb+Ca处理>Pb+TP处理>Pb处理,而铅在细胞质和液泡中的含量表现为Pb处理>Pb+Ca处理>Pb+TP处理。在铅胁迫下,茶树叶片细胞壁对铅的吸纳值饱和后,因膜透性增加,铅进入液泡中与有机酸络合,以减轻铅对细胞的毒害作用。茶多酚加入后,叶片中钙含量显著增加,细胞壁可以吸纳较多的铅元素,细胞膜透性相对降低,因而茶树叶片细胞的液泡中铅沉积减少。周琪等^[6]的研究也表明,抗氧化剂EGCG(茶多酚的主要成分)可以明显缓解8种重金属混合污染物对水生生物细胞的毒害作用。王萌等^[31]的研究表明,钙肥能显著提高毛桃果实内的钙含量,并增加果实细胞壁的强度。铅胁迫下加入钙离子,茶树叶片钙含量显著高于Pb和Pb+TP处理,因为钙离子使细胞壁强度增加,更多的铅元素被固定在细胞壁中,细胞膜透性更低,铅进入细胞液的量减少,液泡内的铅沉积显著减少。蒋艺等^[10]研究发现,添加外源钙后,旱柳根和叶各亚细胞组分中的镉含量均显著降低,且细胞液中镉的比例有所增加,而细胞壁和细胞器组分中镉的比例有所下降。这与本研究的结果不一致,可能是因为植株对镉的吸收通过钙离子通道进行,对铅的吸收则不通过钙离子通道进行^[15],也可能归因于植物品种、栽培环境及钙水平的差异。

4 结论

(1)铅胁迫显著增加了茶树叶片中铅元素的含量,显著降低了钙元素的含量。铅与茶多酚处理的茶树叶片铅元素含量显著降低,钙元素含量显著增加;铅与钙离子处理对茶树叶片铅元素含量无显著影响,但显著增加了钙元素的含量。

(2)铅胁迫下,茶树叶片表面和气孔周围褶皱增加,细胞内部(主要在液泡中)铅沉积显著;茶多酚和钙离子添加后茶树叶片表面和气孔周围的褶皱程度减轻,铅在细胞壁中的累积增加,在细胞质和液泡内的沉积减少。

(3)茶多酚主要通过钝化铅离子来减少铅的吸收,降低铅对茶树叶片的毒害作用;钙离子通过增加叶片对钙的吸收,增强叶片细胞的强度和抗性,增加细胞壁对铅的截留,减少铅进入细胞内部,降低铅对茶树叶片细胞的毒害作用。

参考文献:

- [1] 李艳春,陈志鹏,林伟伟,等.茶树连作障碍形成机制及调控措施研究进展[J].生态科学,2019,38(5):225-232. LI Y C, CHEN Z P, LIN W W, et al. Research advances in mechanisms and preventions of continuous cropping obstacles of tea plants[J]. *Ecological Science*, 2019, 38(5):225-232.
- [2] 于明革.茶多酚对茶树铅生物有效性的调控作用机制[D].杭州:浙江大学,2010. YU M G. Regulation on lead bioavailability in tea plant (*Camellia sinensis* L.) by tea polyphenols and its mechanism[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2010.
- [3] 朱小芳,唐昊治,钱薇,等.茶多酚和铜对可变电荷土壤钙镁释放的影响[J].土壤,2019,51(3):536-540. ZHU X F, TANG H Y, QIAN W, et al. Effects of tea polyphenols and Cu on release of Ca and Mg from variable-charge soils[J]. *Soils*, 2019, 51(3):536-540.
- [4] BOROWSKA S, BRZÓSKA M M, TOMCZYK M. Complexation of bio-elements and toxic metals by polyphenolic compounds: Implications for health[J]. *Current Drug Targets*, 2018, 19(14):1612-1638.
- [5] 王赫,黄辉.茶多酚对铬胁迫玉米幼苗的修复作用[J].天津科技,2016,43(2):43-48. WANG H, HUANG H. Effectiveness of tea polyphenols repair on chromium stress on maize seedlings[J]. *Tianjin Science & Technology*, 2016, 43(2):43-48.
- [6] 周琪,苏红,王亚飞,等.茶多酚对宁波近海水体8种常见重金属联合毒性的拮抗作用[J].宁波大学学报(理工版),2017,30(1):104-109. ZHOU Q, SU H, WANG Y F, et al. Antagonism effect of tea polyphenols to the joint toxicity of heavy metal mixtures on the offshore water in Ningbo area[J]. *Journal of Ningbo University (Natural Science & Engineering Edition)*, 2017, 30(1):104-109.
- [7] 王建萍,杨曾乔,丁雪梅,等.茶多酚对蛋鸡重金属联合暴露的缓解作用[J].动物营养学报,2019,31(1):444-451. WANG J P, YANG Z Q, DING X M, et al. Alleviation effects of tea polyphenol on combined exposure to heavy metal in laying hens[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(1):444-451.
- [8] 李贺,孙亚丽,刘世琦,等.增施钙对镉胁迫下大蒜生理特性及品质的影响[J].园艺学报,2015,42(2):377-385. LI H, SUN Y L, LIU S Q, et al. Effects of exogenous calcium on physiological characteristics and qualities of garlic under cadmium stress[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2015, 42(2):377-385.
- [9] 李贺,连海峰,刘世琦,等.镉胁迫对大蒜苗生理特性的影响及施钙的缓解效应[J].应用生态学报,2015,26(4):1193-1198. LI H, LIAN H F, LIU S Q, et al. Effect of cadmium stress on physiological characteristics of garlic seedlings and the alleviation effects of exogenous calcium[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2015, 26(4):1193-1198.
- [10] 蒋艺,薛文秀,尚晓硕,等.外源Ca对Cd胁迫下旱柳Cd吸收、亚细

- 胞分布和化学形态的影响[J]. 天津师范大学学报(自然科学版), 2021, 41(3): 53-59. JIANG Y, XUE W X, SHANG X S, et al. Effects of exogenous Ca on Cd absorption, subcellular distribution and chemical forms in *Salix matsudana* L. under Cd stress[J]. *Journal of Tianjin Normal University (Natural Science Edition)*, 2021, 41(3): 53-59.
- [11] 张振兴, 孙锦, 郭世荣, 等. 钙对盐胁迫下西瓜光合特性和果实品质的影响[J]. 园艺学报, 2011, 38(10): 1929-1938. ZHANG Z X, SUN J, GUO S R, et al. Effects of supplemental calcium on the photosynthetic characteristics and fruit quality of watermelon under salt stress[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2011, 38(10): 1929-1938.
- [12] KIM K N, LEE J S, HAN H, et al. Isolation and characterization of a novel rice Ca^{2+} -regulated protein kinase gene involved in responses to diverse signals including cold, light, cytokinins, sugars and salts[J]. *Plant Molecular Biology*, 2003, 52(6): 1191-1202.
- [13] FARZADFAR S, ZARINKAMAR F, MODARRES-SANAVY S A M, et al. Exogenously applied calcium alleviates cadmium toxicity in *Matricaria chamomilla* L. plants[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2013, 20: 1413-1422.
- [14] 肖细元, 廖晓勇, 陈同斌, 等. 钾超富集植物蜈蚣草中磷和钙的亚细胞分布及其与耐砷毒的关系[J]. 环境科学学报, 2006, 26(6): 954-961. XIAO X Y, LIAO X Y, CHEN T B, et al. Subcellular distributions of phosphorus and calcium in arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. and its tolerance to phytotoxicity of arsenic[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2006, 26(6): 954-961.
- [15] WEIGEL H J, JÄGER H J. Subcellular distribution and chemical form of cadmium in bean plants[J]. *Plant Physiology*, 1980, 65: 480-482.
- [16] HOU M, HU C J, XIONG L, et al. Tissue accumulation and subcellular distribution of vanadium in *Brassica juncea* and *Brassica chinensis* [J]. *Microchemical Journal*, 2013, 110: 575-578.
- [17] 陈国梁, 冯涛, 陈章, 等. Cd、As、Pb 在沉水植物中的富集对其 Ca 吸收的影响[J]. 生态环境学报, 2017, 26(5): 857-861. CHEN G L, FENG T, CHEN Z, et al. The influences of Cd, As, Pb enrichment by submerged plant on its Ca uptake[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2017, 26(5): 857-861.
- [18] DUAN D C, PENG C, XU C, et al. Lead phytoavailability change driven by its speciation transformation after the addition of tea polyphenols (TPs): Combined selective sequential extraction (SSE) and XANES analysis[J]. *Plant Soil*, 2014, 382(1/2): 103-115.
- [19] 薛艳, 王超, 王沛芳, 等. 外源添加抑制剂对芦蒿吸收 Cd 和 Pb 的影响[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(11): 2255-2258. XUE Y, WANG C, WANG P F, et al. Effect of additive inhibitor on the Cd and Pb uptake of *Artemisia seleirgensis*[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(11): 2255-2258.
- [20] 杨素勤, 程海宽, 景鑫鑫, 等. 不同铅吸收特性小麦 Pb 的亚细胞分布和化学提取态[J]. 中国农业科学, 2015, 48(14): 2848-2856. YANG S Q, CHENG H K, JING X X, et al. Subcellular distribution and chemical-extraction of lead in wheat with different characteristics of lead absorption[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2015, 48(14): 2848-2856.
- [21] 徐劼, 于明革, 陈英旭, 等. 铅在茶树体内的分布及化学形态特征[J]. 应用生态学报, 2011, 22(4): 891-896. XU J, YU M G, CHEN Y X, et al. Characteristic of distribution and chemical forms of Pb in tea plant varieties[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2011, 22(4): 891-896.
- [22] 刘小文, 齐成媚, 李园, 等. 不同铅水平下紫茎泽兰细胞内铅的分布和化学形态的分析[J]. 广西植物, 2016, 36(3): 335-341. LIU X W, QI C M, LI Y, et al. Subcellular distribution and chemical forms of lead in *Eupatorium adenophorum* at different lead levels[J]. *Guizhou*, 2016, 36(3): 335-341.
- [23] RAUSER W E. Structure and function of metal chelators produced by plants: The case for organic acids, amino acids, phytyl, and metallothioneins[J]. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 1999, 31(1): 19-48.
- [24] 刘清泉, 陈亚华, 沈振国, 等. 细胞壁在植物重金属耐性中的作用[J]. 植物生理学报, 2014, 50(5): 605-611. LIU Q Q, CHEN Y H, SHEN Z G, et al. Roles of cell wall in plant heavy metal tolerance[J]. *Plant Physiology Journal*, 2014, 50(5): 605-611.
- [25] ALLEN D L, JARRELL W M. Proton and copper adsorption to maize and soybean root cell walls[J]. *Plant Physiology*, 1989, 89: 823-832.
- [26] ZHU X F, WANG Z W, DONG F, et al. Exogenous auxin alleviates cadmium toxicity in *Arabidopsis thaliana* by stimulating synthesis of hemicellulose I and increasing the cadmium fixation capacity of root cell walls[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2013, 263: 398-403.
- [27] 刘婷婷, 彭程, 王梦, 等. 海州香薷根细胞壁对铜的吸附固定机制研究[J]. 环境科学学报, 2014, 34(2): 514-523. LIU T T, PENG C, WANG M, et al. Mechanism of fixation and adsorption of copper on root cell wall of *Elsholtzia splendens*[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2014, 34(2): 514-523.
- [28] 王娟, 张乐乐, 康宜宁, 等. Pb 在水花生愈伤组织中的超微定位及对矿质元素的影响[J]. 水生生物学报, 2012, 36(2): 307-315. WANG J, ZHANG L L, KANG Y N, et al. Ultrastructural localization and effect of lead on mineral elements in callus of *Alternanthera philoxeroides*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2012, 36(2): 307-315.
- [29] 杨居荣, 黄翌. 植物对重金属的耐性机理[J]. 生态学杂志, 1994, 13(6): 20-26. YANG J R, HUANG Y. Mechanism of heavy metal tolerance of plants[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 1994, 13(6): 20-26.
- [30] 赵腾飞, 刘颖, 王尔美, 等. 外源钙离子对铅胁迫下小麦膜脂过氧化和根系活力的影响[J]. 安徽农业大学学报, 2017, 44(3): 1-5. ZHAO T F, LIU Y, WANG E M, et al. Effects of exogenous Ca^{2+} on membrane lipid peroxidation and root activity of wheat under lead stress[J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2017, 44(3): 1-5.
- [31] 王萌, 许孝瑞, 刘成连, 等. 钙营养对温室毛桃果实品质及生理生化特性的影响[J]. 中国农学通报, 2009, 25(8): 219-222. WANG M, XU X R, LIU C L, et al. The effect of calcium on the fruit quality and physiological and biochemical characteristics of peach in greenhouse [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2009, 25(8): 219-222.

(责任编辑:李丹)