

自然越冬期间茶树叶片生理生化指标和解剖结构的变化

曾光辉^{1,2}, 周琳², 黎星辉^{2,①}

(1. 温州科技职业学院, 浙江温州 325006; 2. 南京农业大学茶叶科学研究所, 江苏南京 210095)

摘要:为探讨自然越冬条件下茶树[*Camellia sinensis* (Linn.) O. Ktze.]叶片的生理生化指标和解剖结构变化,以种植于南京的茶树品种‘龙井长叶’(‘Longjingchangye’)的10年生植株为研究对象,对自然越冬期间(2012年11月15日至2013年3月31日)其叶片的叶绿素、可溶性蛋白质、可溶性糖、游离脯氨酸和丙二醛(MDA)含量,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)活性,以及上表皮、下表皮、栅栏组织和海绵组织厚度及上表皮厚度与海绵组织厚度的比值进行了比较分析。结果表明:自然越冬期间,叶片的叶绿素含量随时间推移呈现先降低后升高的变化趋势,而叶片的可溶性蛋白质、可溶性糖、游离脯氨酸和MDA含量以及SOD、CAT和POD活性则总体上呈现先升高后降低的变化趋势,并且均在2013年1月15日达到其各自的最低值或最高值。与入冬前相比,越冬后叶片的叶绿素和可溶性糖含量显著降低,MDA含量略降低,可溶性蛋白质含量显著升高,游离脯氨酸含量及SOD、CAT和POD活性均略升高。自然越冬期间,叶片的上表皮、下表皮、栅栏组织和海绵组织厚度随时间推移总体上呈现先降低后升高的变化趋势,上表皮和栅栏组织厚度在2013年2月15日达到最低值,而下表皮和海绵组织厚度则在2013年1月30日达到最低值;上表皮厚度与海绵组织厚度的比值呈波动变化趋势。与入冬前相比,入冬后叶片的上表皮、下表皮、栅栏组织和海绵组织厚度均显著降低,而上表皮厚度与海绵组织厚度的比值略降低。研究结果显示:自然越冬条件下,茶树具有一定的耐寒能力,为了减轻低温对其机体的伤害可通过增加可溶性蛋白质、可溶性糖和游离脯氨酸合成及提高相关抗氧化酶活性来调解越冬期间的代谢平衡。

关键词:茶树;自然越冬;抗寒性;生理生化指标;解剖结构

中图分类号: Q948.112⁺.2; Q945.78; S571.1 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2017)01-0063-06
DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2017.01.08

Changes in physiological and biochemical indexes and anatomical structure of leaf of *Camellia sinensis* during natural overwintering period ZENG Guanghui^{1,2}, ZHOU Lin², LI Xinghui^{2,①}
(1. Wenzhou Vocational College of Science and Technology, Wenzhou 325006, China; 2. Tea Research Institute, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2017, 26(1): 63-68

Abstract: In order to understand the changes in physiological and biochemical indexes and anatomical structure of leaf of *Camellia sinensis* (Linn.) O. Ktze. under natural overwintering condition, ten-year-old plants of *C. sinensis* ‘Longjingchangye’ planted in Nanjing were used as materials, contents of chlorophyll, soluble protein, soluble sugar, free proline and malondialdehyde (MDA), activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and peroxidase (POD), thicknesses of upper epidermis, lower epidermis, palisade tissue and spongy tissue, and ratio of upper epidermis thickness to spongy tissue thickness of its leaf were compared and analyzed during natural overwintering period (from November 15th, 2012 to March 31st, 2013). The results show that during natural overwintering period,

收稿日期: 2016-10-24

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金项目(CARS-23); 国家自然科学基金资助项目(31470690); 南京市科技计划项目(201301076); 浙江省教育厅高等学校访问学者专业发展项目(FX2012146)

作者简介: 曾光辉(1974—),男,江西广丰人,硕士研究生,副教授,主要从事园艺作物生理生态研究。

①通信作者 E-mail: lxh@njau.edu.cn

chlorophyll content in leaf appears the trend of decreasing firstly and then increasing as time goes on, while contents of soluble protein, soluble sugar, free proline and MDA, and activities of SOD, CAT and POD in leaf generally appear the trend of increasing firstly and then decreasing, and all of them reach their corresponding lowest or highest values on January 15th, 2013. Compared with before winter, contents of chlorophyll and soluble sugar in leaf decrease significantly, content of MDA decreases slightly, that of soluble protein increases significantly, that of free proline and activities of SOD, CAT and POD increase slightly after winter. During natural overwintering period, thicknesses of upper epidermis, lower epidermis, palisade tissue and spongy tissue appear the trend of decreasing firstly and then increasing, those of upper epidermis and palisade tissue reach the lowest values on February 15th, 2013, while those of lower epidermis and spongy tissue reach the lowest values on January 30th, 2013; ratio of upper epidermis thickness to spongy tissue thickness appears a fluctuation trend. Compared with before winter, thicknesses of upper epidermis, lower epidermis, palisade tissue and spongy tissue of leaf all decrease significantly, while ratio of upper epidermis thickness to spongy tissue thickness decreases slightly after winter. It is suggested that under natural overwintering condition, *C. sinensis* has some cold tolerance ability. In order to reduce the damage of low temperature to its body, it is possible to mediate the metabolism balance by increasing syntheses of soluble protein, soluble sugar and free proline, and improving related antioxidant enzyme activities during natural overwintering period.

Key words: *Camellia sinensis* (Linn.) O. Ktze.; natural overwintering; cold resistance; physiological and biochemical indexes; anatomical structure

针对冬春冷害频发以及冷害严重影响农业生产等问题,不同领域的研究者已从生长发育、生理生化、生物物理、生态、结构组织和DNA结构等方面对不同的农作物和经济作物进行了相关研究,主要涉及冷害发生机制、冷害评价方法以及提高植物抗冷害水平方法等,并在植物抗冷害的形态学、生理学和生物化学等方面均取得了一定的研究进展。目前,有关低温胁迫下植物生理响应的相关研究主要集中在膜系统、细胞内物质(如糖、氨基酸、蛋白质和内源激素)、细胞抗氧化能力以及低温转导信号等方面^[1-4]。

茶树[*Camellia sinensis* (Linn.) O. Ktze.]原产于热带及亚热带地区,性喜暖喜湿,是中国丘陵山区的主要经济作物之一,近几十年来随着茶叶消费量的日渐增多,茶树的栽培面积日益扩大,其种植区域逐渐移至高纬度、高海拔地区。随着全球气温的急剧变化,茶树在生长过程中时常受到低温伤害,严重影响茶叶的产量和品质^[5]。低温胁迫对茶树的生理过程有明显影响,茶树的越冬能力是其长期适应低温环境而逐步形成的形态和生理生化特性。相关研究表明:低温条件下茶树生理生化特征及叶片结构的变化均可作为其抗寒性的间接鉴定指标,并可为选育优良的茶树抗寒品种提供依据^[6-8]。

目前有关低温胁迫对茶树影响的相关研究多采用模拟低温(4℃)的实验设置,与冬季及倒春寒期间的自然温度变化有一定差距,也不符合茶树生长过程

中实际受到的低温伤害过程。鉴于此,作者以生长在南京的茶树品种‘龙井长叶’(‘Longjingchangye’)为研究对象,对自然越冬期间(11月中旬至翌年3月底)其叶片部分生理生化指标及解剖结构的变化进行比较研究,初步探讨茶树对自然低温胁迫的生理和结构响应,并分析其对自然低温的抗性机制,以期茶树抗寒性鉴定指标筛选以及抗寒茶树品种选育提供基础实验数据。

1 材料和方法

1.1 材料

实验材料为种植于南京市中山陵茶园的10年生茶树品种‘龙井长叶’的无性系植株,属灌木型、中叶类早生茶树品种,抗寒性强,适宜在江南和江北种植。该茶园的具体地理坐标为东经118°50′36.71″、北纬32°02′59.49″;属亚热带季风气候;海拔34 m;年均温15.3℃~17.0℃,最高温39.7℃,最低温-13.1℃;年日照时数1 658.8~2 014.4 h;年降水量1 079.9~1 455.2 mm。

随机选取株龄一致、生长良好且长势一致的植株作为样株,共60株,分别挂牌标记;样株的平均株高60 cm、平均地径43 cm。

从2012年11月15日至2013年3月31日采集供试叶片,约15 d采集1次;取样当日气温见表1,数据由南京市气象局南京中山植物园观测站提供。

表 1 自然越冬期间茶树品种‘龙井长叶’叶片取样日的气温变化
Table 1 Changes in air temperature at sampling day of leaf of *Camellia sinensis* ‘Longjingchangye’ during natural overwintering period

| 取样日期 Sampling date (YYYY-MM-DD) | 最高温/℃ The maximum temperature | 最低温/℃ The minimum temperature | 均温/℃ Mean temperature |
|---------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------|
| 2012-11-15 | 16.67 | 5.80 | 11.27 |
| 2012-11-30 | 13.20 | 4.13 | 8.80 |
| 2012-12-15 | 9.66 | 1.21 | 5.21 |
| 2012-12-31 | 4.28 | -0.81 | 1.73 |
| 2013-01-15 | 6.01 | -2.37 | 1.39 |
| 2013-01-30 | 8.75 | -0.19 | 3.45 |
| 2013-02-15 | 7.42 | 2.18 | 4.41 |
| 2013-03-01 | 12.00 | 3.61 | 7.41 |
| 2013-03-15 | 17.08 | 5.46 | 10.68 |
| 2013-03-31 | 15.53 | 6.38 | 10.43 |

1.2 方法

1.2.1 样品采集及处理方法 在取样日上午 8:00, 分别于各样株的当年生枝条中部采集无病虫害的第 3 枚至第 5 枚成熟且完整的叶片, 混匀; 每次取 3 个重复样品。

将样叶用蒸馏水洗净并吸干表面水分, 称量后放入液氮中速冻, 置于 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存, 用于生理生化指标测定; 取样株的第 4 枚叶片, 洗净并吸干表面水分, 用 FAA 液固定, 用于制作石蜡切片。

1.2.2 生理生化指标的测定 采用分光光度法^{[9]134-136}测定叶绿素含量; 采用考马斯亮蓝法^[10]测定可溶性蛋白质含量; 采用蒽酮比色法^[11]测定可溶性糖含量; 采用酸性茚三酮显色法^{[9]278-279}测定游离脯氨酸含量; 采用硫代巴比妥酸法^[12]测定丙二醛(MDA)含量; 采用氮蓝四唑(NBT)法^[13]测定超氧化物歧化酶(SOD)活性; 采用紫外吸收法^[14]测定过氧化氢酶(CAT)活性; 采用愈创木酚法^[15]测定过氧化物酶(POD)活性。每个指标重复测定 3 次。

1.2.3 叶片解剖结构的观察 采用石蜡切片法^[16]制片, 用 Leica RM2016 切片机(德国 Leica 公司)对每个叶片从顶端至底部进行连续横切, 并从叶柄一侧开始向另一侧进行连续纵切, 切片厚度 $8\text{ }\mu\text{m}$; 经爱氏苏木精整体染色和番红-固绿双重染色后, 用 BX41TF 光学显微镜(日本 Olympus 公司)进行观察、拍照和测量。每个指标重复测定 3 次。

1.3 数据统计及分析

采用 EXCEL 2007 和 SPSS 20.0 统计分析软件对相关实验数据进行统计和分析, 并采用 Duncan's 新复极差法进行显著性检验。

2 结果和分析

2.1 自然越冬期间茶树叶片生理生化指标的变化

自然越冬期间茶树品种‘龙井长叶’叶片的叶绿素、可溶性蛋白质、可溶性糖、游离脯氨酸和丙二醛(MDA)含量以及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)活性的变化见表 2。

2.1.1 叶绿素含量的变化 由表 2 可见: 自然越冬期间(2012 年 11 月 15 日至 2013 年 3 月 31 日), 茶树品种‘龙井长叶’叶片的叶绿素含量随时间推移呈现先降低后升高的变化趋势, 即在 2012 年 11 月 15 日至 2013 年 1 月 15 日期间逐渐下降, 在 2013 年 1 月 15 日至 2013 年 3 月 31 日期间逐渐升高, 并在 2013 年 1 月 15 日降到最低值($5.33\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)。越冬后(2013 年 3 月 31 日)叶片的叶绿素含量仍显著($P < 0.05$)低于入冬前(2012 年 11 月 15 日)水平。

2.1.2 主要渗透调节物含量的变化 由表 2 可见: 自然越冬期间, 茶树品种‘龙井长叶’叶片的可溶性蛋白质、可溶性糖和游离脯氨酸含量总体上随时间推移呈现先升高后降低的变化趋势, 并在 2013 年 1 月 15 日达到最高值, 但这 3 个指标的变化幅度各异, 其中游离脯氨酸含量的变化幅度相对较小。叶片的可溶性蛋白质、可溶性糖和游离脯氨酸含量的最高值基本上均较其他时间显著升高, 分别较入冬前升高 52.17%、86.18% 和 32.43%。

2.1.3 MDA 含量的变化 由表 2 可见: 自然越冬期间, 茶树品种‘龙井长叶’叶片的 MDA 含量变化趋势与主要渗透调节物含量的变化趋势一致, 即随时间推移呈现先升高后降低的变化趋势, 并在 2013 年 1 月 15 日达到最高值($1.48\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$)。越冬后叶片的 MDA 含量略低于入冬前水平。

2.1.4 抗氧化酶活性的变化 由表 2 可见: 自然越冬期间, 茶树品种‘龙井长叶’叶片的 SOD、CAT 和 POD 活性均随时间推移呈现先升高后降低的变化趋势, 其中, SOD 活性在 2013 年 1 月 30 日达到最高值($766.71\text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$), CAT 和 POD 活性在 2013 年 1 月 15 日达到最高值(分别为 $637.59\text{ U}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ 和 $1489.63\text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$); 在 2013 年 1 月 15 日至 3 月 31 日期间, 叶片的 CAT 和 POD 活性不同程度降低, SOD 活性则在 1 月 30 日略有增加, 但随后显著降低。越冬后叶片的这 3 种酶活性均略高于入冬前水平。

表 2 自然越冬期间茶树品种‘龙井长叶’叶片部分生理生化指标的变化 ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾Table 2 Changes in some physiological and biochemical indexes of leaf of *Camellia sinensis* ‘Longjingchangye’ during natural overwintering period ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

| 取样日期 Sampling date (YYYY-MM-DD) | 叶绿素含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ Chlorophyll content | 可溶性蛋白质含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ Soluble protein content | 可溶性糖含量/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ Soluble sugar content | 游离脯氨酸含量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ Free proline content |
|---------------------------------------|---|--|--|--|
| 2012-11-15 | 7.10±0.21a | 15.33±0.42e | 67.94±0.75h | 23.77±0.63e |
| 2012-11-30 | 7.03±0.21ab | 19.27±0.76c | 90.94±0.86f | 24.38±1.31de |
| 2012-12-15 | 6.72±0.15abc | 20.20±0.40bc | 98.72±0.54d | 25.48±0.53d |
| 2012-12-31 | 5.93±0.28ef | 22.87±0.31a | 103.50±0.33c | 27.15±0.88c |
| 2013-01-15 | 5.33±0.18g | 23.33±0.42a | 126.50±0.67a | 31.48±1.22a |
| 2013-01-30 | 5.81±0.20f | 20.80±0.72b | 109.56±1.00b | 28.83±0.68b |
| 2013-02-15 | 5.85±0.08f | 20.87±0.12b | 98.11±0.82de | 27.08±0.67c |
| 2013-03-01 | 6.30±0.31de | 21.40±0.72b | 96.94±1.49e | 25.31±1.19de |
| 2013-03-15 | 6.61±0.26cd | 19.07±0.95c | 83.44±0.42g | 24.95±0.33de |
| 2013-03-31 | 6.67±0.19bcd | 17.67±1.33d | 58.61±0.95i | 23.93±0.96de |

| 取样日期 Sampling date (YYYY-MM-DD) | 丙二醛含量/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ MDA content | SOD 活性/ $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ SOD activity | CAT 活性/ $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ CAT activity | POD 活性/ $\text{U}\cdot\text{g}^{-1}$ POD activity |
|---------------------------------------|---|--|--|--|
| 2012-11-15 | 0.98±0.02cd | 719.91±4.81e | 306.38±8.39h | 485.07±29.45d |
| 2012-11-30 | 1.01±0.15cd | 725.66±2.56de | 347.09±3.83g | 503.23±10.80d |
| 2012-12-15 | 1.15±0.06bcd | 738.35±3.16bc | 386.76±3.28e | 670.93±18.65c |
| 2012-12-31 | 1.30±0.10ab | 746.97±7.43bc | 587.95±5.02b | 996.03±8.50b |
| 2013-01-15 | 1.48±0.15a | 765.06±12.11a | 637.59±3.07a | 1489.63±29.93a |
| 2013-01-30 | 1.20±0.03bc | 766.71±7.82a | 565.39±1.59c | 989.93±19.75b |
| 2013-02-15 | 1.17±0.07bc | 740.69±3.62bc | 423.87±6.42d | 503.37±21.11d |
| 2013-03-01 | 1.06±0.19cd | 734.45±2.81cd | 380.76±3.11e | 503.27±17.27d |
| 2013-03-15 | 1.04±0.18cd | 726.19±3.37de | 370.03±4.17f | 497.70±20.04d |
| 2013-03-31 | 0.94±0.09d | 722.78±4.98e | 309.20±2.95h | 495.37±21.93d |

¹⁾ 同列中不同的小写字母表示差异显著 ($P<0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant difference ($P<0.05$).

2.2 自然越冬期间茶树叶片解剖结构的变化

自然越冬期间茶树品种‘龙井长叶’叶片的上表皮、下表皮、栅栏组织和海绵组织的厚度以及上表皮厚度与海绵组织厚度比值的变化见表 3。

由表 3 可见:自然越冬期间(2012 年 11 月 15 日

至 2013 年 3 月 31 日),茶树品种‘龙井长叶’叶片的上表皮、下表皮、栅栏组织和海绵组织厚度总体上均随时间推移呈现先降低后升高的变化趋势,其中,上表皮和栅栏组织厚度在 2013 年 2 月 15 日达到最低值(分别为 27.43 和 91.54 μm),下表皮和海绵组织

表 3 自然越冬期间茶树品种‘龙井长叶’叶片解剖结构的变化 ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾Table 3 Changes in anatomical structure of leaf of *Camellia sinensis* ‘Longjingchangye’ during natural overwintering period ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

| 取样日期 Sampling date (YYYY-MM-DD) | 厚度/ μm Thickness | | | | R ²⁾ |
|---------------------------------------|-----------------------------|------------------------|-------------------------|-----------------------|-----------------|
| | 上表皮 Upper epidermis | 下表皮 Lower epidermis | 栅栏组织 Palisade tissue | 海绵组织 Spongy tissue | |
| 2012-11-15 | 41.99±1.08a | 32.32±1.87a | 127.70±5.54a | 240.05±5.09a | 0.18±0.00ab |
| 2012-11-30 | 37.05±1.63b | 31.24±0.01ab | 118.10±3.46b | 208.59±2.23b | 0.18±0.01ab |
| 2012-12-15 | 33.75±0.63c | 29.44±0.63cd | 107.69±7.06c | 199.53±2.53c | 0.17±0.01bc |
| 2012-12-31 | 32.67±0.62cd | 29.31±0.40cd | 104.53±1.07c | 189.53±7.06d | 0.17±0.01bc |
| 2013-01-15 | 31.59±1.64cde | 28.72±0.62cd | 98.84±1.15d | 183.53±4.35de | 0.17±0.01bc |
| 2013-01-30 | 31.23±1.10de | 27.25±0.62e | 96.91±1.86e | 169.07±3.80g | 0.19±0.01a |
| 2013-02-15 | 27.43±1.07g | 28.37±0.61de | 91.54±1.08e | 174.76±4.17fg | 0.16±0.01c |
| 2013-03-01 | 28.72±0.76fg | 29.05±0.81cd | 92.20±1.64de | 179.46±3.60fg | 0.16±0.01c |
| 2013-03-15 | 29.82±1.65ef | 29.95±0.06bc | 93.33±1.24de | 181.31±2.45ef | 0.17±0.01bc |
| 2013-03-31 | 29.44±1.64efg | 29.96±0.37bc | 94.63±1.46de | 190.08±20.77ef | 0.16±0.01c |

¹⁾ 同列中不同的小写字母表示差异显著 ($P<0.05$) Different lowercases in the same column indicate the significant difference ($P<0.05$).

²⁾ R: 上表皮厚度与海绵组织厚度的比值 Ratio of upper epidermis thickness to spongy tissue thickness.

厚度在 2013 年 1 月 30 日达到最低值(分别为 27.25 和 169.07 μm);并且,上表皮、下表皮、栅栏组织和海绵组织厚度在越冬期间及越冬后(2013 年 3 月 31 日)显著低于入冬前(2012 年 11 月 15 日)水平。

由表 3 还可见:自然越冬期间,茶树品种‘龙井长叶’叶片上表皮厚度与海绵组织厚度的比值随时间推移呈现波动的变化趋势。越冬后叶片上表皮厚度与海绵组织厚度的比值较入冬前略降低。

3 讨论和结论

叶绿素含量能够直接影响植物的光合效率,可作为衡量植物光合能力的重要指标。温度对叶绿素生物合成的一系列酶促反应影响较大,低温能够抑制酶的活性,影响叶绿素的合成,造成植物叶绿素含量下降,从而降低植物对光的利用率^[17-19]。本研究中,自然越冬期间(2012 年 11 月 15 日至 2013 年 3 月 31 日),茶树品种‘龙井长叶’叶片的叶绿素含量随时间推移呈现先降低后升高的变化趋势,说明越冬过程中茶树叶片的光合器官未受到永久伤害,但茶树叶片叶绿素含量的变化是否与低温相关还有待进一步研究。

可溶性蛋白质、可溶性糖和游离脯氨酸均能够参与植物细胞的抗寒过程,提高细胞液浓度、降低细胞水势、增加细胞保水能力,从而降低细胞的冰点,使植物能够耐受一定程度的低温胁迫^[20-21]。自然越冬期间,茶树品种‘龙井长叶’叶片的可溶性蛋白质、可溶性糖和游离脯氨酸含量的变化趋势基本一致,表现为随时间推移呈现先升高后降低的变化趋势。说明在自然越冬条件下,茶树品种‘龙井长叶’可能通过增加可溶性糖和游离脯氨酸的合成来提高胞内溶质浓度,防止细胞过度脱水;同时,还可能合成逆境响应蛋白和保护性酶类等,使可溶性蛋白质含量增加,从而提高茶树对低温的抗性。李叶云等^[19]的研究结果表明:不同茶树品种的可溶性蛋白质、可溶性糖和游离脯氨酸含量在 $-6\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时总体上显著高于对照(未经低温处理),在 $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时显著低于对照,说明 $-6\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的低温胁迫不会对茶树的细胞膜结构等造成过度损伤或破坏。由于实验期间样品采集地的最低温度均高于 $-6\text{ }^{\circ}\text{C}$,据此认为,本研究中的自然低温条件并未阻止茶树品种‘龙井长叶’叶片中可溶性蛋白质、可溶性糖和游离脯氨酸的合成,并且在 2013 年 1 月 15 日后随着气温回升,三者可调整各自在叶片中

的浓度以适应环境温度的变化。

丙二醛(MDA)既是衡量植物体内膜损伤程度的一个重要指标,也是冷应激损伤的反映参数,同时也反映了植物对其体内活性氧和自由基的清除能力。本实验结果表明:温度越低茶树品种‘龙井长叶’叶片的 MDA 含量越高,即温度越低茶树细胞膜的损伤程度越严重。相关研究表明:低温胁迫能诱导活性氧(ROS)的积累,并且高浓度 ROS 会破坏细胞结构和生物大分子,导致细胞死亡^[22-23]。非生物胁迫下,植物具有氧化应激防御系统,可以通过提高超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)等 ROS 清除酶的活性来清除体内的 ROS。本研究中,茶树品种‘龙井长叶’叶片的 SOD、CAT 和 POD 活性均随入冬后气温降低而增强,并随越冬后期气温回升而减弱。基于这 3 种酶活性的变化,并结合叶片 MDA 含量的变化,认为在自然越冬条件下,虽然低温对茶树细胞膜有一定损伤,但这种损伤仍处于可恢复范围内;同时,由于茶树具有一定的耐寒能力,其抗氧化酶活性会随着环境温度下降而增强,以减少细胞中的 ROS 含量,维持活性氧代谢平衡,进而保护膜结构,减轻有毒和有害物质对细胞的伤害。

植物叶片的组织结构与其抗性存在一定的相关性^[24-27]。束际林^[28]认为,茶树叶片上表皮和下表皮与角质层相连,构成叶片的保护层,其厚度与机体的抗寒性有一定相关性,并且,上表皮对抗寒性的作用比下表皮更显著,即上表皮越厚茶树的抗寒性越强。此外,束际林^[28]还认为,叶片上表皮厚度在 20 μm 以上,且上表皮厚度与海绵组织厚度的比值在 0.18 以上为茶树抗寒性强的标志。本研究中,自然越冬期间,茶树品种‘龙井长叶’叶片的上表皮、下表皮、栅栏组织和海绵组织的厚度均随入冬时间推移呈现先降低后升高的变化趋势,而不同时间叶片上表皮厚度与海绵组织厚度的比值却低于或略高于 0.18,说明茶树品种‘龙井长叶’并未表现出较强的抗寒性,推测可能由于失水等原因而导致其上表皮、下表皮、栅栏组织和海绵组织变薄,并且随着气温回升及其对低温的适应,叶片各部分组织结构逐渐恢复。

低温为典型的环境胁迫因素之一,不但影响植物的生长发育,而且限制植物的分布。植物的抗寒性既受基因控制,也与长期适应季节及昼夜环境温度变化有关。在冬季来临之前,随着气温逐渐降低,植物体内发生了一系列适应低温的生理变化(主要包括积

累可溶性糖、蛋白质和脯氨酸等,调节抗氧化酶活性及非酶保护物质含量,防止细胞脱水并加速清除活性氧),以尽量减少低温对细胞的伤害,不断提高其抗寒能力。近年来,关于低温对植物生理生化影响的研究越来越深入^[4,7-8,18-19,21,29]。本研究结果表明:低温确实对茶树品种‘龙井长叶’的叶片产生了一定的伤害,但自然越冬期间的低温并不会对其造成永久伤害;同时,茶树通过增加可溶性糖、可溶性蛋白质、游离脯氨酸的合成及提高抗氧化酶活性来调节体内的代谢平衡,从而减轻低温对机体的伤害。在自然越冬期间,低温对茶树品种‘龙井长叶’造成的活性氧代谢失衡在温度回升时得到一定程度的减轻和恢复,说明茶树品种‘龙井长叶’对低温有一定的适应性。

参考文献:

- [1] GUSTA L V, WISNIEWSKI M. Understanding plant cold hardiness: an opinion[J]. *Physiologia Plantarum*, 2013, 147: 4-14.
- [2] OUELLET F, CHARRON J-B. Cold acclimation and freezing tolerance in plants[M]//John Wiley & Sons, Ltd. *Encyclopedia of Life Sciences*. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd., 2013.
- [3] 尚湘莲. 蔬菜低温胁迫与抗冷性研究进展[J]. *长江蔬菜*, 2002 (S1): 18-20.
- [4] 李庆会, 徐辉, 周琳, 等. 低温胁迫对2个茶树品种叶片叶绿素荧光特性的影响[J]. *植物资源与环境学报*, 2015, 24(2): 26-31.
- [5] FANG W P, ZHANG Y, ZHOU L, et al. Isolation and characterization of *Histone1* gene and its promoter from tea plant (*Camellia sinensis*) [J]. *Molecular Biology Reports*, 2013, 40: 3641-3648.
- [6] 黄建安. 茶树保护性酶类与抗寒性的关系[J]. *茶叶科学*, 1990, 10(1): 35-40.
- [7] 周琳, 陈暄, 王玉花, 等. 超敏蛋白对低温胁迫下茶树生理特性的影响[J]. *园艺学报*, 2014, 41(4): 746-754.
- [8] 王辉军, 廖万有, 朱振超. 茶树抗性生理评价研究进展[J]. *中国农学通报*, 2011, 27(2): 79-83.
- [9] 王学奎. *植物生理生化实验原理和技术* [M]. 2版. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [10] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72: 248-254.
- [11] YEMM E W, WILLIS A J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone [J]. *Biochemical Journal*, 1954, 57: 508-514.
- [12] DHINDSA R S, PLUMB-DHINDSA P, THORPE T A. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase [J]. *Journal of Experimental Botany*, 1981, 32: 93-101.
- [13] GIANNOPOLITIS C N, RIES S K. Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants [J]. *Plant Physiology*, 1977, 59: 309-314.
- [14] AEBI H. Catalase *in vitro* [J]. *Methods in Enzymology*, 1984, 105: 121-126.
- [15] CHEN Q, YANG L M, AHMAD P, et al. Proteomic profiling and redox status alteration of recalcitrant tea (*Camellia sinensis*) seed in response to desiccation [J]. *Planta*, 2011, 233: 583-592.
- [16] JIN B, WANG L, WANG J, et al. The structure and roles of sterile flowers in *Viburnum macrocephalum* f. *keteleeri* (Adoxaceae) [J]. *Plant Biology*, 2010, 12: 853-862.
- [17] 李迎春, 陈双林, 郭子武, 等. 模拟低温或自然低温条件下牡竹属3种类抗寒性及生理指标的比较[J]. *植物资源与环境学报*, 2012, 21(3): 13-19.
- [18] LIU W, YU K, HE T, et al. The low temperature induced physiological responses of *Avena nuda* L., a cold-tolerant plant species [J]. *The Scientific World Journal*, 2013, 2013: 658793.
- [19] 李叶云, 庞磊, 陈启文, 等. 低温胁迫对茶树叶片生理特性的影响[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2012, 40(4): 134-138, 145.
- [20] VERBRUGGEN N, HERMANS C. Proline accumulation in plants: a review [J]. *Amino Acids*, 2008, 35: 753-759.
- [21] 杨玉珍, 陈刚, 彭方仁, 等. 低温胁迫下不同种源香椿含水量和渗透调节物质含量差异及其与抗寒性的相关性[J]. *植物资源与环境学报*, 2014, 23(4): 47-54.
- [22] SUZUKI N, MITTLER R. Reactive oxygen species and temperature stresses: a delicate balance between signaling and destruction [J]. *Physiologia Plantarum*, 2006, 126: 45-51.
- [23] KRASENSKY J, JONAK C. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 63: 1593-1608.
- [24] 户金鸽, 孙玉萍, 杨英, 等. 9个哈密瓜品种叶片解剖结构及其抗旱性研究[J]. *中国瓜菜*, 2013, 26(6): 11-13.
- [25] 庞杰, 张凤兰, 郝丽珍, 等. 莎芥幼苗叶片解剖结构和光合作用对干旱胁迫的响应[J]. *生态环境学报*, 2013, 22(4): 575-581.
- [26] 高香凤, 李慧玲, 王庆森. 茶树叶片组织结构及次生物质与抗虫性关系研究进展[J]. *茶叶科学技术*, 2011(2): 7-11.
- [27] 陈佳, 李凤英, 邱勇娟, 等. 广西桂中野生茶树叶片解剖结构的观察与分析[J]. *中国农学通报*, 2014, 30(10): 197-202.
- [28] 束际林. 茶树叶片解剖结构鉴定的原理与技术[J]. *中国茶叶*, 1995(1): 2-4.
- [29] 程国山, 游新才, 武艳, 等. 低温胁迫后抗寒茶树品种‘紫阳圆叶’的基因差异表达分析[J]. *植物资源与环境学报*, 2013, 22(4): 38-43.

(责任编辑: 佟金凤)