

# 铝胁迫下茶多酚和咖啡因对葡萄生长生理的影响

张永福<sup>1</sup>, 李利红<sup>1</sup>, 王定斌<sup>2</sup>, 莫丽玲<sup>1</sup>, 牛燕芬<sup>1</sup>

(1. 昆明学院 农学院, 云南 昆明 650224; 2. 宣威市阿都乡农业综合服务中心, 云南 宣威 655425)

**摘要:** 分别用 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 mg/L 的茶多酚和咖啡因处理 10 mmol/L  $\text{Al}^{3+}$  胁迫下的葡萄苗, 60 d 后测定其生长及生理指标。结果发现, 铝胁迫下, 葡萄苗叶片宽度和厚度增大, 节间距、根长和株高变小, 茎粗增大, 生长受抑; 叶片和根系的可溶性糖、氮、钾含量下降, 铝含量大幅度上升。茶多酚和咖啡因处理可使铝胁迫下的葡萄叶片长、宽、厚增大, 节间距和根长增长, 株高增高; 且叶片和根系的可溶性糖、氮、磷、钾的含量总体上升, 铝含量下降。总体看来, 0.50~0.75 mg/L 茶多酚和咖啡因处理对铝胁迫下葡萄苗的生长和树体营养的积累有促进作用。

**关键词:** 茶多酚; 咖啡因; 葡萄苗; 生长; 营养

中图分类号: S663.1 文献标识码: A 文章编号: 1674-5639(2017)06-0077-05

DOI: 10.14091/j.cnki.kmxyxb.2017.06.017

## Effects of Tea Polyphenols and Caffeine on the Growth Physiology of Grape Seedlings under Aluminum Stress

ZHANG Yongfu<sup>1</sup>, LI Lihong<sup>1</sup>, WANG Dingbin<sup>2</sup>, MO Liling<sup>1</sup>, NIU Yanfen<sup>1</sup>

(1. College of Agriculture, Kunming University, Kunming, Yunnan, China 650214;

2. Comprehensive Agricultural Service Center of Adu Township of Xuanwei City, Xuanwei, Yunnan, China 655425)

**Abstract:** The grape seedlings with 10 mmol/L potassium aluminum sulfate stress were treated with 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 mg/L, tea polyphenols and caffeine respectively for 60 days to determine their growth and physical sings. The results showed that under the aluminum stress, the width and thickness of leaf increased; pitch distance, root length and plant height became smaller; stem diameter increased, and the grape seedlings growth inhibited; the contents of soluble sugar, nitrogen and potassium in leaves and roots decreased, and aluminum content increased greatly. Tea polyphenols and caffeine make leaf length, width, thickness, internode length, root length and the plant height of grape with the aluminum stress increased; and the contents of soluble sugar, nitrogen, phosphorus and potassium in leaves and roots increased, and aluminum content decreased. In general, the treatments of tea polyphenols and caffeine from 0.50 to 0.75 mg/L could promote the growth and the accumulation of tree nutrition of grape seedlings under the aluminum stress.

**Key words:** tea polyphenols; caffeine; grape seedlings; growth; nutrition

茶多酚是茶叶中的主要生物活性物质, 其化学成分是茶树中酚类物质及其衍生物, 可通过与铝络合来增强茶树的耐铝性<sup>[1]</sup>。咖啡因是从咖啡或茶叶中提取的一种甲基黄嘌呤生物碱, 少量饮用含咖啡因的饮品能够缓解疲劳、刺激神经、振作精神, 因此临床上将其多用于治疗昏迷复苏和神经衰弱。土壤中的铝元素含量非常丰富, 一般情况以不溶或难溶于水的硅酸盐等形式存在, 不对植物造成伤害, 但若

在 pH 值小于 5.0 的酸性土壤中, 可溶性铝含量增大, 大量  $\text{Al}^{3+}$  被植物吸收, 对植物造成毒害作用<sup>[2]</sup>。茶多酚和咖啡因生理活性的相关研究<sup>[3-4]</sup>在人类医疗保健方面较多。而在提高植物抗逆性方面仅茶多酚有少量报道, 如茶多酚可提高大麦耐铝性, 使大麦在铝胁迫下株高、根长显著增加, 过氧化物酶 (POD) 和超氧化物歧化酶 (SOD) 活性上升, 活性氧减少, 减少细胞膜结构损伤<sup>[5]</sup>。咖啡因在植物生长

收稿日期: 2017-10-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31660559); 云南省应用基础研究计划项目 (2017FD087); 昆明学院科学研究资助项目 (XJZZ1604)。

作者简介: 张永福 (1981—), 男, 云南弥勒人, 博士, 教授, 主要从事果树抗性生理研究。

发育、生理生化及抗逆性等方面的研究还未见报道,仅课题组前期工作发现用咖啡因处理葡萄对提高其耐铝性有一定作用。

葡萄(*Vitis* spp.)的耐铝性较差,铝胁迫使植株生长受抑,叶片黄化,根系变黑<sup>[6]</sup>;葡萄根长、茎长、显著降低,铝、可溶性糖含量、蛋白质和脯氨酸的含量上升,总氮和钾的含量变化不大,磷含量显著降低<sup>[7]</sup>。在我国南方的广大酸性土壤地区,铝毒危害严重,影响葡萄产业的发展<sup>[6]</sup>。为了降低酸性土壤中铝毒对葡萄生产的危害,课题组首次选用茶多酚和咖啡因来提高葡萄的耐铝性,效果较好。然而,茶多酚和咖啡因处理对铝胁迫下葡萄植株生长及营养的影响状况还不得而知。鉴于此,本研究以葡萄扦插苗为试材,在铝胁迫下用不同质量浓度茶多酚和咖啡因进行处理,然后测定其根、茎、叶的生长特征,以及有机和无机营养物质含量,探讨茶多酚和咖啡因对铝胁迫下葡萄苗生长及营养的影响,为葡萄生产中解决铝毒问题提供新的途径。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

本试验选用的材料为水晶葡萄(*Vitis vinifera* × *V. labrusca*)当年生扦插苗,来源于云南省弥勒市。挑选生长健壮一致、无病虫害者,把根部泥土洗干净,植于 25 cm × 30 cm 营养钵中,基质为 *V*(草炭):*V*(蛭石):*V*(珍珠岩) = 3:1:1,每钵栽植 1 株。自栽植之日起,每隔 2 d 浇 1 次改良 Hoagland's 营养液(pH 值 4.8),每次每株浇 500 mL。

### 1.2 试验设计

移栽两周待葡萄缓苗后,在改良 Hoagland's 营养液中加入 10 mmol/L 硫酸铝钾,每隔 2 d 浇 1 次,每次每株浇 500 mL。次日,每株再分别浇不同质量浓度的咖啡因和茶多酚处理液 500 mL。各处理具体如表 1 所示。每个处理 4 株,重复 3 次,处理时间为 60 d。处理完成采样后,整个植株先用自来水冲洗干净再用去离子水清洗 2 次,取成熟、健康、生长均匀的叶片和根系用于测定各项指标。

### 1.3 指标测定方法

叶宽、叶长、节间距用直尺测量,根长和株高用钢卷尺测量,叶厚和茎粗用游标卡尺测量。成熟叶片和根系置于 95℃ 烘箱中烘至恒重(质量),磨碎后过

60 目标准筛,筛下的粉末用于测定各种营养物质含量。用硫酸—苯酚法测定可溶性糖含量,用酸解法测定淀粉含量<sup>[7]</sup>;筛下的粉末用硫酸-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 消解后用纳氏试剂显色法测定氮含量,用钼蓝法测定磷含量,用四苯硼钠法测定钾含量,用铬天青 S 显色法测定铝含量。每个指标重复测 3 次,取平均值。

表 1 试验处理方法

处理	硫酸铝钾 /(mmol · L <sup>-1</sup> )	茶多酚 /(mg · L <sup>-1</sup> )	咖啡因 /(mg · L <sup>-1</sup> )
T0	10.00	0.00	0.00
T1	10.00	0.25	0.00
T2	10.00	0.50	0.00
T3	10.00	0.75	0.00
T4	10.00	1.00	0.00
T5	10.00	0.00	0.25
T6	10.00	0.00	0.50
T7	10.00	0.00	0.75
T8	10.00	0.00	1.00
CK	0.00	0.00	0.00

### 1.4 数据处理分析

所有原始数据用 Excel 2010 整理、计算后用 SPSS 17.0 统计软件进行差异显著性分析( $P < 0.05$ ),最后再用 Excel 2010 作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 铝胁迫下茶多酚和咖啡因对葡萄苗生长特性的影响

从表 2 可看出,茶多酚和咖啡因处理对铝胁迫下葡萄苗的叶片、茎干和根系生长影响较大。T8 的叶片长度最长,且显著长于 T3, T4, T5, T6, T7, CK 和 T0, T4 和 CK 的叶片长度较短,且显著短于 T0, T1, T2, T3, T7 和 T8; T0 的叶片宽度最宽,且显著宽于 T1, T4 和 T6, T1 的叶片宽度最窄,且显著窄于 T0, T2, T3, T5, T7, T8 和 CK; T0, T1 和 T5 的叶片厚度显著厚于 T6, 其他各处理之间差异无统计学意义; T2, T7 和 T8 的节间距显著大于其他处理, T0 的节间距则显著小于其他处理; T0, T4 和 T8 的茎粗显著大于 CK, 而 CK 则显著小于其他处理; T2, T7 和 T8 的根长显著大于 T0, T1, T3, T4, T5, T6 和 CK, 而 T0, T4 和 T5 则显著小于 T2, T3, T6, T7, T8 和 CK; T3 的株高显著高于 T0, T1, T2, T5, T6 和 CK, T0 则显著矮于其他处理。可见,铝胁迫使葡萄叶片宽度和厚度增大,节间距、根长和株高变小,茎粗增大;用茶多酚和

咖啡因处理后,葡萄叶片长、宽、厚增大,节间距和根长增大,株高增高.

表 2 铝胁迫下茶多酚和咖啡因对葡萄苗生长特性的影响

处理	叶长/cm	叶宽/cm	叶厚/mm	节间距/cm	茎粗/mm	根长/cm	株高/cm
T0	12.29 ± 0.71 d	15.81 ± 0.27 a	0.280 ± 0.070 a	7.41 ± 0.76 d	8.21 ± 0.62 a	35.50 ± 2.89 c	120.75 ± 12.20 e
T1	14.23 ± 1.01 ab	12.98 ± 0.41 d	0.270 ± 0.005 a	10.13 ± 0.19 ab	7.60 ± 0.57 ab	39.00 ± 2.64 bc	170.67 ± 10.52 cd
T2	14.10 ± 0.21 ab	14.10 ± 0.76 abc	0.200 ± 0.040 ab	10.47 ± 0.32 a	7.24 ± 0.63 ab	48.00 ± 1.41 a	246.33 ± 13.05 a
T3	13.48 ± 0.66 bc	15.39 ± 1.29 ab	0.250 ± 0.005 ab	9.98 ± 0.65 bc	7.92 ± 0.44 ab	40.00 ± 0.82 bc	203.33 ± 13.51 bc
T4	11.61 ± 0.87 d	13.24 ± 1.15 cd	0.260 ± 0.003 ab	9.17 ± 0.60 c	8.09 ± 0.21 a	38.50 ± 2.08 c	189.00 ± 14.00 c
T5	12.59 ± 0.62 cd	14.11 ± 0.81 abc	0.270 ± 0.100 a	9.67 ± 1.27 bc	7.73 ± 0.15 ab	36.25 ± 2.50 c	187.00 ± 14.36 c
T6	12.76 ± 0.48 cd	13.83 ± 0.20 bcd	0.220 ± 0.100 b	9.98 ± 0.54 bc	7.88 ± 0.43 ab	43.50 ± 2.11 b	196.50 ± 13.70 bc
T7	13.53 ± 0.37 bc	14.88 ± 1.71 abc	0.230 ± 0.008 ab	10.13 ± 0.83 a	7.90 ± 0.49 ab	53.50 ± 3.50 a	227.67 ± 13.21 ab
T8	15.25 ± 0.49 a	14.99 ± 0.99 abc	0.240 ± 0.002 ab	11.04 ± 0.65 a	8.06 ± 0.30 a	48.37 ± 2.40 a	225.67 ± 15.13 ab
CK	12.15 ± 0.61 d	14.33 ± 1.04 abc	0.250 ± 0.005 ab	9.44 ± 0.16 c	7.04 ± 0.46 b	40.50 ± 2.08 bc	164.00 ± 14.00 d

注:表中同一列数字后的不同小写字母表示达到  $P < 0.05$  的差异显著性水平.

2.2 铝胁迫下茶多酚和咖啡因对葡萄苗可溶性糖和淀粉含量的影响

从图 1 可看出,铝胁迫降低了葡萄叶片和根系的 可溶性糖含量,茶多酚和咖啡因处理可提高其含 量,对根系中的含量也产生一定的影响.叶片可溶性 糖含量最高的是 CK,且显著高于除 T4 外的其他处 理,T0 的含量则显著低于其他处理;在各质量浓度 的茶多酚和咖啡因处理中,T4 和 T5 叶片可溶性糖 含量相对较高;根系中则 T1 的含量最高,且显著高

于其他处理,T2,T3,T4 和 CK 次之,T8 则最低.图 1 还可看出,铝胁迫下,葡萄叶片淀粉含量上升,根系 淀粉含量下降,茶多酚和咖啡因处理后,对其产生较 大影响. CK 叶片淀粉含量显著低于其他处理,T8 则 显著高于其他处理,其次是 T7,而 T1,T2,T3 和 T5 则相对较低,且显著低于其他处理;CK 根系淀粉含 量显著高于其他处理,T6,T7 和 T8 次之,T1,T2, T3,T4 和 T5 则显著低于 CK.

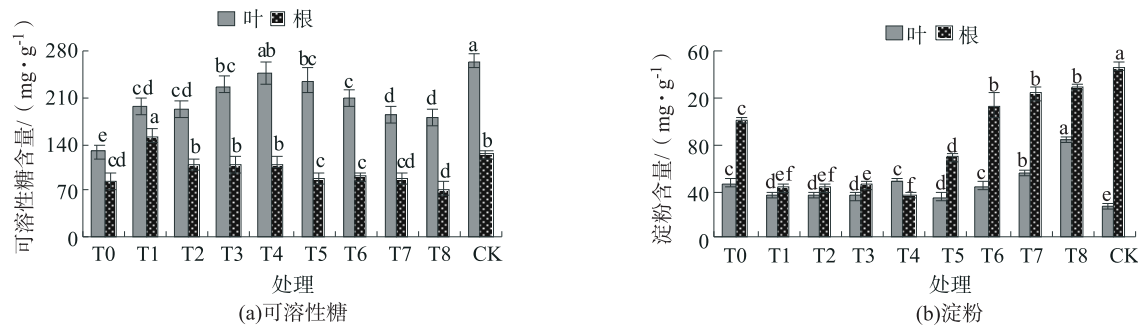


图1 铝胁迫下茶多酚和咖啡因对葡萄苗可溶性糖和淀粉含量的影响

2.3 铝胁迫下茶多酚和咖啡因对葡萄苗氮、磷、钾和铝含量的影响

从图 2 可看出,铝胁迫显著降低了葡萄叶片氮、磷、钾的含量,根系的氮含量也显著降低,茶多酚和 咖啡因处理后,葡萄叶片和根系中的氮、磷、钾含量

均有不同程度的上升. T0 和 T1 叶片的氮含量显著 低于其他处理,而 T6 则显著高于除 T5 和 T7 外的各 处理;T0 根系的氮含量显著低于其他处理,CK,T4 和 T7 则显著高于除 T3,T5,T6 和 T8 外的各处理. T0 叶片磷含量显著低于其他处理,而 T5 叶片磷含

量则显著高于除 T6, T8 和 CK 外的各处理; T1 和 T5 根系的磷含量显著高于除 T2 和 T3 外的各处理; CK 根系的磷含量则显著低于除 T7 外的各处理. T4 叶片的钾含量显著低于除 T0 外的其他处理, T2 叶片的钾含量则显著高于其他处理; T0, T1 和 T2 根系钾

含量显著低于除 T3 和 CK 外的各处理, T5 则高于其他处理. 铝胁迫使葡萄叶片和根系的铝含量大幅度上升, 茶多酚和咖啡因处理后则有不同程度的下降. T0 叶片铝含量显著高于 T3, T4, T7, T8 和 CK, CK 则显著低于 T0, T1, T2, T3, T4 和 T5.

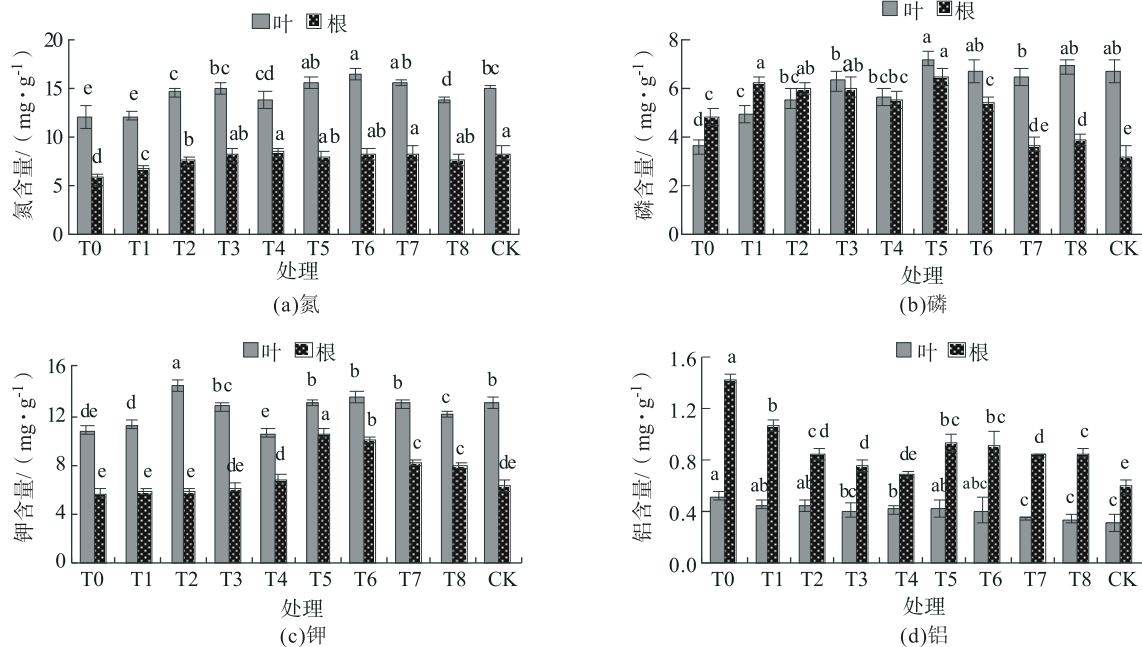


图2 铝胁迫下茶多酚和咖啡因对葡萄苗氮、磷、钾、铝含量的影响

### 3 结论与讨论

植物的抗逆性可用该种植物在逆境胁迫下的生长状况来评价. 铝不是植物生长的必需元素, 对植物生长的影响具有双重性, 即低浓度能够在一定程度上促进其生长, 高浓度则对其有较明显的抑制作用, 植物吸收土壤中的铝过多将受到伤害<sup>[8-10]</sup>. 铝胁迫下, 葡萄叶片宽度、厚度、茎粗增大, 节间距、根长和株高变小, 这与张永福<sup>[7]</sup>的研究结果基本一致; 用茶多酚和咖啡因处理后, 葡萄叶片长、宽、厚均增大, 节间距和根长也增长, 株高增高. 植物根系是对铝毒最敏感的部位, 铝胁迫下根系生长最先受到影响, 因此可根据铝胁迫下根系的相对生长率来判断植物的耐铝性及所受铝毒的情况<sup>[11]</sup>. 茶多酚和咖啡因处理后, 葡萄苗根系生长加快, 铝毒害效应得到一定程度的缓解, 其中 0.50 mg/L 茶多酚和 0.75 mg/L 咖啡因处理的效果最佳.

可溶性糖和淀粉是植物体内重要的有机营养和渗透调节物质. 逆境胁迫下可溶性糖将在植物体内大量积累, 以保持细胞的渗透势, 也为合成其他渗透

调节物质提供能量和碳源<sup>[12]</sup>. 总碳含量是植物树体营养水平的一个重要指标, 铝胁迫下, 龙眼根、茎、叶碳含量均下降<sup>[13]</sup>, 本研究结果与之相似, 即铝胁迫下葡萄叶片的可溶性糖和淀粉及根系的可溶性糖含量均下降. 茶多酚和咖啡因处理后, 叶片的可溶性糖含量上升, 根系的含量总体也呈上升趋势; 且茶多酚处理后, 叶片和根系中的淀粉含量均下降, 而咖啡因处理后则总体呈上升趋势. 说明铝胁迫下, 用茶多酚和咖啡因处理后, 提高了葡萄的可溶性糖含量, 细胞液浓度上升, 渗透势下降, 原生质与周围环境的渗透平衡得以保持, 细胞失水量减少, 使细胞膜免遭破坏, 提高耐铝性.

铝干扰植物根系对矿质元素的吸收是植物发生铝毒害的重要因素之一<sup>[14]</sup>. 有研究<sup>[15]</sup>认为, 高浓度铝处理造成龙眼根系吸收氮、钾的障碍, 使得叶片氮、钾含量下降. 本研究也发现铝胁迫使葡萄根系和叶片的氮、钾元素含量下降, 原因可能是高浓度铝使葡萄根系受到伤害, 吸收能力下降, 也可能是  $\text{Al}^{3+}$  与  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{K}^+$  之间存在拮抗作用; 但在一定量的茶多酚和咖啡因处理后, 其氮、钾元素含量有一定的回

升.此外,有报道<sup>[15]</sup>显示,铝胁迫促进龙眼根系对磷的吸收,使根系的磷含量提高,但叶的磷含量却降低,本研究的结果与之相同.原因可能是葡萄根系通过磷的吸收而络合了铝,因此运输到叶片的磷减少;但用茶多酚和咖啡因处理后,根系中的磷大量输入到叶片,所以叶片中的磷含量上升,此时因根系受到铝毒伤害减小,其磷含量也总体上升.最后,本研究还发现,铝处理使葡萄叶片和根系中铝含量大幅度上升,特别是根系;但用茶多酚和咖啡因处理后,叶片和根系中的铝含量均有不同程度的下降,其原因可能是茶多酚和咖啡因能够络合铝,减少了葡萄苗对铝的吸收.从本研究来看,0.75 mg/L 茶多酚和0.50 mg/L 咖啡因对提高铝胁迫下葡萄苗的碳素及无机营养的效果较好.

### [参考文献]

- [1] NAGATA T, HAYATSU M, KOSUGE N. Identification of aluminium forms in tea leaves by <sup>27</sup>Al-NMR[J]. *Phytochemistry*, 2002, 31(4): 1215–1218.
- [2] ARENHART R A, DE LIMA J C, PEDRON M, et al. Involvement of ASR genes in aluminium tolerance mechanisms in rice[J]. *Plant Cell and Environment*, 2013, 36: 52–67.
- [3] LIU S M, OU S Y, HUANG H H. Green tea polyphenols induce cell death in breast cancer MCF-7 cells through induction of cell cycle arrest and mitochondrial-mediated apoptosis[J]. *Journal of Zhejiang University (Science B)*, 2017, 18(2): 89–98.
- [4] 刘寒旸, 宋军, 周艳, 等. 咖啡因通过 Caspase 通路促进胃癌细胞凋亡的研究[J]. *实用临床医药杂志*, 2017, 21(13): 40–44.
- [5] 于翠平. 茶树耐铝基因型差异及机理研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2014.
- [6] 张永福, 任祺, 陈泽斌, 等. 水杨酸对缓解葡萄苗铝毒害的生理机制[J]. *华北农学报*, 2015, 30(1): 182–187.
- [7] 张永福, 黄鹤平, 彭声静, 等. 铝胁迫下水杨酸对水晶葡萄植株生长及营养积累的影响[J]. *中外葡萄与葡萄酒*, 2015(2): 10–15.
- [8] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [9] LIN Z, MYHRE D L. Differential responses of citrus rootstock to aluminum levels in nutrient solutions: II. Plant mineral concentrations[J]. *J Plant Nutr*, 1991, 14: 1239–1254.
- [10] 张盛楠, 刘亚敏, 刘玉民, 等. 马尾松幼苗生长及生理特性对铝胁迫的响应[J]. *西北植物学报*, 2016, 36(10): 2022–2029.
- [11] KOCHAIN L V. Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants[J]. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1995, 46: 237–260.
- [12] ARBIND K C, DHARMENDRA S, MIR A L. Selection of pigeonpea genotypes for tolerance to aluminum toxicity[J]. *Plant Breeding*, 2011, 130(4): 492–495.
- [13] 万泉. 铝胁迫对龙眼幼苗碳水化合物含量的影响[J]. *热带作物学报*, 2007, 28(4): 10–14.
- [14] FOR C D, CHANG R C, WHITE M C. The physiology of metal toxicity in plants[J]. *Annual Review of Plant Physiology*, 1978, 29: 511–566.
- [15] 肖祥希, 陈立松, 蔡艳惠, 等. 铝胁迫对龙眼幼苗营养元素吸收的影响[J]. *江西农业大学学报*, 2005, 27(2): 230–233, 316.

