

油茶根尖铝累积及其对酚代谢和抗氧化相关指标的影响

渠心静, 冯学瑞, 张泽莲, 耿蕊, 袁军*

中南林业科技大学, 经济林培育与保护省部共建教育部重点实验室, 长沙410004

摘要: 以油茶‘华金’ (*Camellia oleifera* ‘Huajin’) 扦插苗为试验材料, 设不加铝和1 mmol·L⁻¹铝处理4、24、48、100、196 h根尖前2 cm, 测定根尖铝含量、酚代谢物以及抗氧化相关指标。结果表明: 根尖铝含量随着铝处理时间增加而增加, 细胞壁铝含量为根尖总铝含量的73.10%, 细胞壁上的果胶和半纤维素1 (HC1) 有较强的铝累积吸附能力; 铝诱导苯丙氨酸裂解酶(PAL)活性提高, 可溶性酚和细胞壁结合态酚含量提高, 多酚氧化酶(PPO)以及共价结合态过氧化物酶(CPO)活性降低; 铝添加提高了超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)活性, 降低了H₂O₂和丙二醛(MDA)含量; 铝供应提高了可溶性糖、可溶性蛋白和游离脯氨酸含量。该研究表明油茶根尖细胞壁果胶和HC1对铝的强吸附累积能力降低了铝毒性; 适宜的外源铝能提高酚类物质含量和降低CPO活性, 有利于增强抗逆性和降低细胞壁木质化速度; 活性氧清除能力以及渗透调节能力的增强有利于细胞内环境的稳定。适宜浓度外源铝供应条件下多种生理响应机制协同促进了油茶根尖伸长。

关键词: 根尖; 细胞壁; 铝累积; 酚类物质; 抗氧化酶

铝胁迫是pH低于5.5的酸性土壤限制植物生长的主要限制因子之一(Safari等2018), 根系伸长受到抑制是铝毒害的原初症状(Delhaize和Ryan 1995), 低浓度的Al³⁺可以在短时间内累积在根表, 使根表皮细胞伸长受到抑制, 内部未受铝胁迫的细胞却正常伸长, 从而导致根系损伤, 而根尖是铝胁迫最为敏感的区域(Kopittke等2015)。目前, 对植物根尖解铝毒机制进行了很多研究, 细胞壁被认为是离子进入原生质体内的一道屏障(Zheng等2004), 多种耐铝植物遭遇铝胁迫时可在细胞壁上累积大量的铝, 细胞壁的果胶、半纤维素等物质在累积吸附铝的过程中起着重要作用(Li等2017; Yang等2011)。同时, 酚类化合物是植物体内天然的次生代谢物, 具有抗氧化、抗病毒等多种生物活性, 其含量受外界多种因素影响(Hajiboland等2013a; Apak等2007)。有报道指出, 铝胁迫下, 酚类物质能与铝形成螯合物(Nagata等1992)。铝也能改变苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)、多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)、过氧化物酶(peroxidase, POD)等的活性, 从而影响酚类物质的合成与代谢(Hajiboland等2013a, b)。此外, 铝能影响超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)活性, 而这些酶和POD的活性对H₂O₂、超氧阴离子(O₂⁻)等的清除起关键作用(Huang等2017; 黄丽媛等

2016)。可溶性糖、可溶性蛋白、游离脯氨酸在抗逆方面具有调节渗透压和细胞内环境的作用, 也有很多研究表明它们在铝胁迫当中可起到保护作用(Mukhopadyay等2012)。

油茶(*Camellia oleifera*)是我国南方酸性红壤地区重要的木本食用油料树种(Yang等2016)。研究表明油茶具有适应低pH和高铝环境的特点, 其老叶铝含量高达13.5 g·kg⁻¹, 是典型的铝超累积植物(Chen等2008)。很多研究表明, 不同于铝敏感植物, 适宜浓度的铝供应对油茶生长有明显促进作用, 且油茶的铝耐受性明显高于其他植物(Zeng等2011)。然而, 低浓度的铝对油茶根尖伸长的影响, 以及在适宜铝浓度处理条件下根尖的代谢生理还未见报道。课题组前期研究表明, 1 mmol·L⁻¹的外源铝浓度对油茶生长有显著促进作用(Huang等2017)。本研究以1 mmol·L⁻¹的外源铝处理油茶幼苗, 并分时间段取样测定油茶根尖相关生理指标, 探究油茶根尖吸收累积铝的过程及外源铝对根尖酚类物质代谢和抗氧化相关指标的影响, 以期低浓度铝促进油茶生长的生理机制提供参考资料。

收稿 2019-03-28 修定 2019-08-04
资助 湖南省重点研发项目(2017NK2201)。
* 通讯作者(yuanjunchina@126.com)。

1 材料与方法

1.1 供试材料及培养条件

本试验以油茶‘华金’(*Camellia oleifera* Abel. ‘Hujin’)扦插苗为试验材料。扦插时选取粗壮的半木质化枝条作为穗条,剪成长10 cm的插穗,扦插于用自来水冲洗干净的珍珠岩苗床上,定期喷水,浇灌营养液。6个月后,选取株高一致、根系生长一致、无偏根现象的健壮扦插苗移植于16 cm×18 cm的塑料花盆中,将冲洗干净的珍珠岩和河沙以体积比5:2混和均匀作为生长介质。移植后的油茶扦插苗转移至人工气候室,预培养3周,每天浇营养液200 mL,营养液配方($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.713、 NH_4NO_3 0.73、 KH_2PO_4 0.1、 K_2SO_4 0.46、 CaCl_2 0.5、 MgSO_4 0.41、Fe-EDTA 0.032、 H_3BO_3 0.046、 CuSO_4 0.002、 MnSO_4 0.09、 Na_2MoO_4 0.0026、 ZnSO_4 0.0091; 溶液pH为4.5 (Ghanati等2005)。

1.2 样品处理及根尖相对伸长率测定

预培养结束后,在原溶液配方的基础上加入 AlCl_3 配制含 $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Al}^{3+}$ 的处理液,用含0和 $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{Al}^{3+}$ 的营养液处理油茶幼苗,取处理4、24、48、100、196 h油茶根尖前2 cm部分,放入液氮中速冻,然后转移至 -80°C 冰箱中保存待测各指标。铝处理0 h的样品为各时间段不加铝处理根尖样品的混和。

根据Safari等(2018)的方法,铝处理前随机选取10条新生侧根用细的黑色记号笔标记根尖向上20 mm处,分别测定不同时间段不加铝和 $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 铝处理根尖至黑色标记处的长度,并计算根尖相对伸长率,根尖相对伸长率=(测定根长-初始根长)/初始根长。

1.3 铝含量测定

1.3.1 根尖及细胞壁组分铝含量测定

采用浓硫酸-双氧水法消解制备待测液,适当稀释后用电感耦合等离子体质谱仪(inductively coupled plasma-mass spectrometry, ICP-MS; iCAP Q, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)测定铝含量。

细胞壁各组分分离参照Li等(2016)的方法: 将

根尖用液氮匀浆,加5 mL纯水, 4°C 、 $2\ 300\times g$ 离心15 min, 弃上清液; 向沉淀中加入10倍体积的体积分数为80%的乙醇, 室温振荡30 min, 离心后弃上清液, 重复2次; 沉淀用10倍体积的体积比为1:1的甲醇:氯仿混和液, 室温振荡30 min, 离心后弃上清液, 重复2次; 沉淀用10倍体积的丙酮淋洗, 室温振荡30 min, 离心后弃上清液, 纯水洗2遍, 沉淀为细胞壁粗提取物。向粗提取的细胞壁中加入 $40\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 草酸铵(含 $26\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{NaBH}_4$) 5 mL, 沸水浴1 h, 4°C 、 $2\ 300\times g$ 离心15 min, 收集上清液, 重复2次, 合并上清液, 为果胶组分; 向沉淀中加入 $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{NaOH}$ 5 mL振荡提取4 h, 收集上清液, 重复2次, 合并上清液, 冰乙酸中和pH, 为半纤维素1(hemicellulose 1, HC1)组分; 向沉淀中加入 $6\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{NaOH}$ 5 mL, 振荡提取4 h, 收集上清液, 重复2次, 合并上清液, 冰乙酸中和pH, 为半纤维素2(HC2)组分; 沉淀用乙醇淋洗, 60°C 烘干至恒重, 为去果胶和半纤维素后的纤维素组分。各组分均采用浓硫酸-双氧水消解, ICP-MS测定铝含量。

1.3.2 细胞壁吸收动力学曲线

取不加铝处理的油茶根尖, 按照第1.3.1节的方法, 分别获得粗提取、去果胶、去HC1和去HC2的细胞壁。参照Zheng等(2004)的方法, 采用蠕动泵装置, 吸附液为 $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{AlCl}_3$ 和 $0.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{CaCl}_2$, pH 4.5; 蠕动泵流速为 $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, 每隔10 min收集一次, 收集的溶液稀释后用ICP-MS测定铝含量。

1.4 生理指标测定

1.4.1 酚类物质代谢相关指标测定

PAL活性测定参照王学奎和黄见良(2015)的方法进行; PPO活性测定参照Hajiboland等(2013a)的方法进行; 可溶态过氧化物酶(soluble peroxidase, SPO)、离子结合态过氧化物酶(ionically bound peroxidase, IPO)、共价结合态过氧化物酶(covalently bound peroxidase, CPO)参照Pandolfini等(1992)的方法进行分离, 以丁香醛连氮为反应底物测定活性; 可溶态酚类物质和细胞壁结合态酚类物质测定参照Heidarabadi等(2011)的方法进行。

1.4.2 抗氧化酶活性及双氧水含量测定

参照王学奎和黄见良(2015)的方法测定SOD、

CAT和POD活性。SOD采用氮蓝四唑法测定, CAT活性用高锰酸钾滴定法测定, POD活性以愈创木酚为底物测定。H₂O₂含量测定参照张志良等(2009)的方法采用二甲酚橙法进行。

1.4.3 可溶性糖、可溶性蛋白、游离脯氨酸及丙二醛含量测定

丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量采用硫代巴比妥酸法测定, 可溶性糖含量采用蒽酮比色法测定, 可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝G-250法测定, 游离脯氨酸含量采用茚三酮显色法测定, 均参照王学奎和黄见良(2015)的方法进行。

1.5 数据处理

数据记录采用Microsoft Excel 2013, 均值、标准差计算及方差分析均用SPSS 22.0完成, 方差分析采用Duncan法, 制图采用Origin 8.0。

2 实验结果

2.1 铝对油茶根尖相对伸长率的影响

如图1所示, 在整个处理期内, 1 mmol·L⁻¹铝处理对油茶根尖伸长均有明显促进作用, 处理4 h后根尖伸长较0 mmol·L⁻¹铝处理(对照)即有提高; 处理100和196 h后, 根尖伸长分别较对照提高31%和34%。

2.2 铝在油茶根尖的累积

2.2.1 油茶根尖铝含量及其亚细胞分布

油茶根尖及细胞壁铝含量测定结果如图2-A所

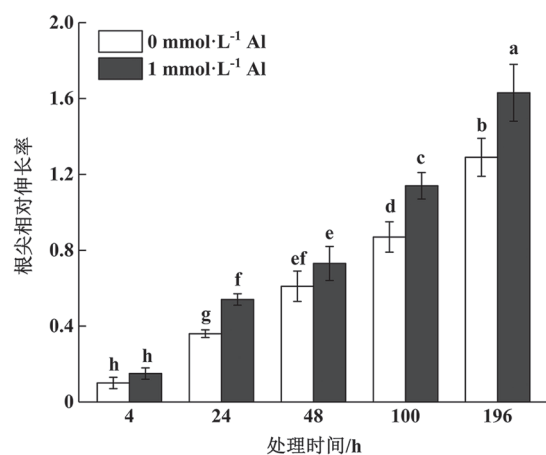


图1 铝对油茶根尖伸长的影响

Fig.1 Effect of Al on root tip elongation of *C. oleifera*
柱形上用不同小写字母标识表示差异显著($P < 0.05$), 下同。

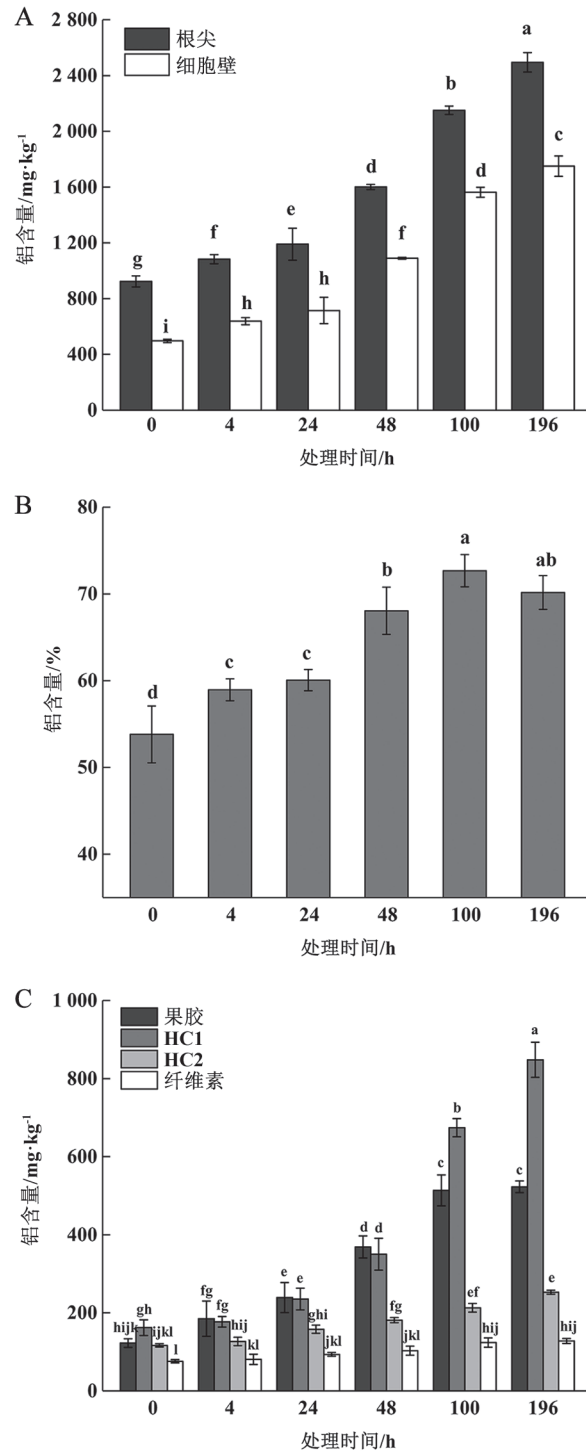


图2 油茶根尖铝含量及铝在细胞壁上的累积与分布
Fig.2 Al contents in root tips and Al accumulation/distribution on cell wall in *C. oleifera*

A: 根尖及细胞壁铝含量随处理时间的变化; B: 细胞壁铝含量占根尖总铝含量比例随处理时间的变化; C: 铝在根尖细胞壁组分中的分布情况随处理时间的变化。

示, 根尖铝含量随着铝处理时间的增加而显著提高, 根尖初始铝含量(铝处理0 h时)为 $923.35\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 铝处理196 h时根尖铝含量达 $2\,494.40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 是初始值的2.7倍。细胞壁铝含量与根尖铝含量有相同的变化趋势, 即随着铝处理时间的增加而显著提高, 铝处理196 h时根尖细胞壁铝含量是对照的3.52倍。

细胞壁铝含量在根尖总铝含量中所占比例如图2-B所示。铝处理0 h时, 细胞壁铝含量仅占根尖总铝含量的53.80%, 随着铝处理时间的增加, 细胞壁铝含量所占比重明显提高, 铝处理100和196 h时, 细胞壁铝含量所占比例已达70%以上。

铝在油茶根尖细胞壁组分中的分布情况如图2-C所示: 铝处理0 h时, 铝在细胞壁各组分中的累积均较少; 随着铝处理时间的增加, 其在果胶和HC1组分中的累积量提高, 铝处理196 h较0 h时分别提高了4.3和5.2倍; 而HC2和纤维素组分中铝的累积量变化较小。在处理100和196 h时, 铝在HC1组分中的累积量显著高于果胶组分。

2.2.2 油茶根尖细胞壁组分对铝的吸附动力学

如图3所示, 细胞壁对铝的吸附随着时间的增加而增加, 其中完全的细胞壁对铝的吸附速率最快, 其次是去果胶的细胞壁, 而去果胶、HC1的细胞壁和去果胶、HC2、HC2的细胞壁对铝的吸附速率较慢。约600 min (即10 h)后, 各细胞壁对铝的吸附趋于稳定。果胶、HC1和HC2组分铝的吸附量

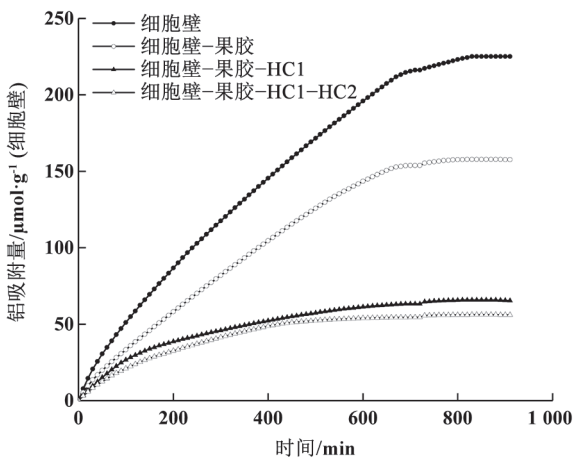


图3 油茶根尖细胞壁对铝的吸附动力学曲线
Fig.3 Al absorption kinetic curve of cell wall in root tips of *C. oleifera*

分别占细胞壁总铝吸附量的30%、41%和5%。可以看出, HC1组分吸附铝的能力最强, 其次是果胶组分。

2.3 铝对油茶根尖酚类物质代谢的影响

2.3.1 铝对油茶根尖PAL和PPO活性的影响

铝处理显著提高了根尖PAL活性, 铝处理4 h时根尖PAL活性最大, 随着处理时间增加, PAL活性呈下降趋势, 但铝处理196 h时, PAL活性仍高于铝处理0 h时; PPO活性在铝处理4 h时出现显著下降, 随着铝处理时间的增加, PPO活性仍呈下降趋势, 但下降幅度趋缓(图4)。

2.3.2 铝对油茶根尖酚类物质含量的影响

根尖可溶性酚和细胞壁结合态酚含量随铝处

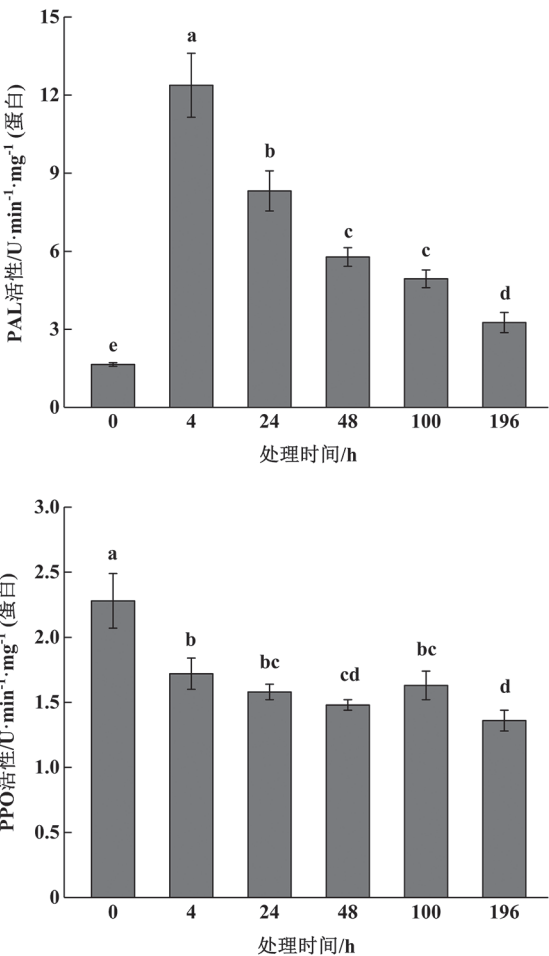


图4 铝对油茶根尖PAL和PPO活性的影响
Fig.4 Effect of Al on PAL and PPO activities in root tips of *C. oleifera*

理时间的增加呈上升趋势(图5)。可溶性酚含量在铝处理0~4 h和48~100 h期间增量最大, 结合态酚含量在铝处理48~100 h时增量最大; 根尖可溶性酚和细胞壁结合态酚含量分别在铝处理196和100 h时达到最大值。

2.3.3 铝对油茶根尖POD活性的影响

以丁香醛连氮为反应底物测定的POD活性如图6所示: 铝处理前24 h对SPO活性的提高有明显促进作用; IPO活性在铝处理前24 h显著降低, 24 h后IPO活性均处于较低状态; CPO活性在铝处理前4 h显著降低, 4~48 h期间变化不明显, 48 h后又明显降低。

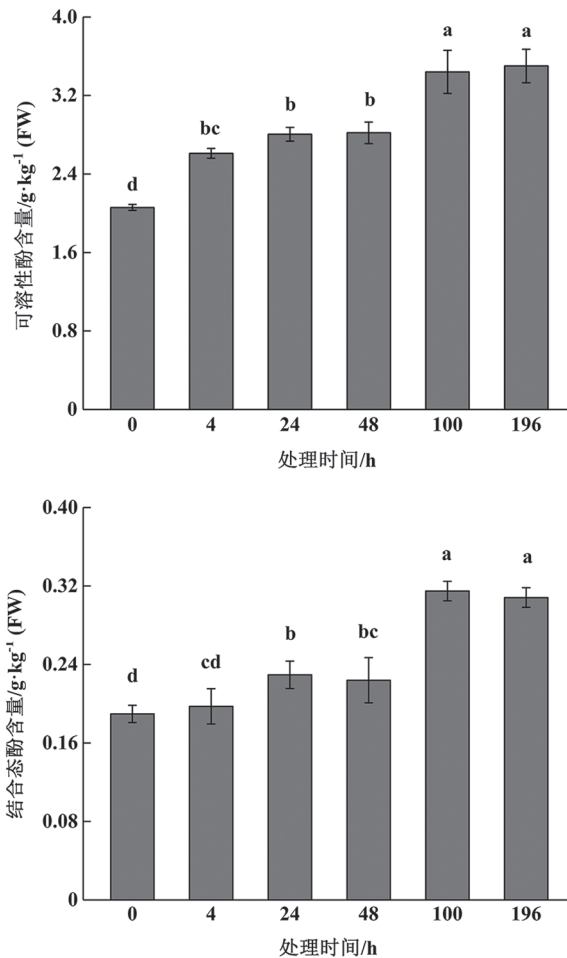


图5 铝对油茶根尖可溶性酚和细胞壁结合态酚含量的影响

Fig.5 Effect of Al on soluble phenol and cell wall-bound phenol contents in root tips of *C. oleifera*

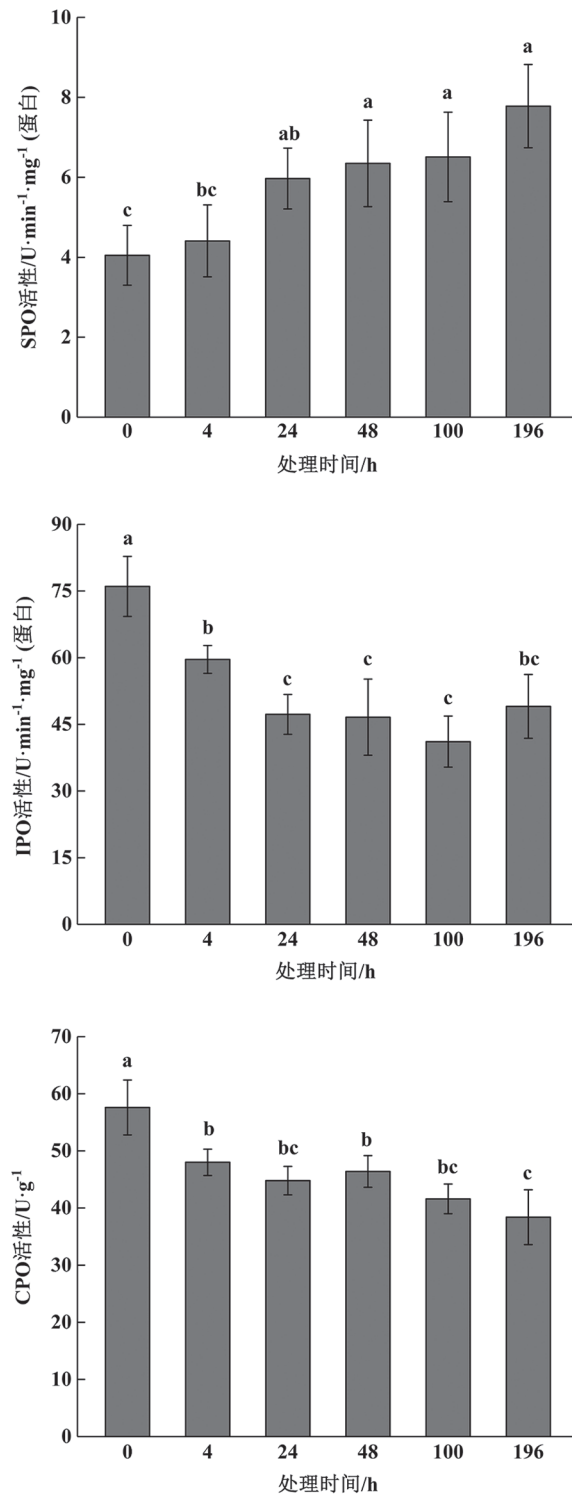


图6 铝对油茶根尖不同形态POD活性的影响

Fig.6 Effect of Al on the activities of PODs in different forms in root tips of *C. oleifera*

2.4 铝对油茶根尖抗氧化酶活性及 H_2O_2 含量的影响

铝处理下根尖SOD、CAT、POD活性均显著高于对照(图7)。SOD活性在铝处理4 h时达到最大, 随后降低, 48 h后活性无显著变化。CAT活性在铝处理4和24 h时较高, 随后降低, 48 h后活性无显著变化。POD活性在铝处理4~100 h时均较高, 且之间无显著差异, 在196 h时活性显著降低。铝处理0 h时 H_2O_2 含量最高, 在0~24 h时 H_2O_2 含量显著降低, 随后其含量有小幅上升, 但均在较低水平。

2.5 铝对油茶根尖MDA、游离脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白含量的影响

油茶根尖MDA含量随着铝处理时间增加呈降低趋势, 在铝处理100 h时降到最低; 根尖游离脯氨酸含量在铝处理前24 h显著提高, 而后无显著差

异; 可溶性糖含量和可溶性蛋白含量随着铝处理时间的增加呈上升趋势, 均在铝处理100 h时达到最高(图8)。

3 讨论

对多数植物来说, 铝限制植物生长首先是抑制根尖伸长, 铝可以诱导提高根尖细胞壁多糖含量, 尤其是大分子量的多糖含量, 从而影响细胞壁伸长(Tabuchi和Matsumoto 2001); 而对茶(*C. sinensis*)等铝累积植物的研究表明, 一定浓度的铝对根系伸长均有显著促进作用(Li等2017; González-Santana等2012)。本研究发现, 低浓度的铝对油茶根尖伸长有明显促进作用, 可能是植株通过调节木葡聚糖内转糖苷酶(xyloglucan endotransglucosylase, XET)、

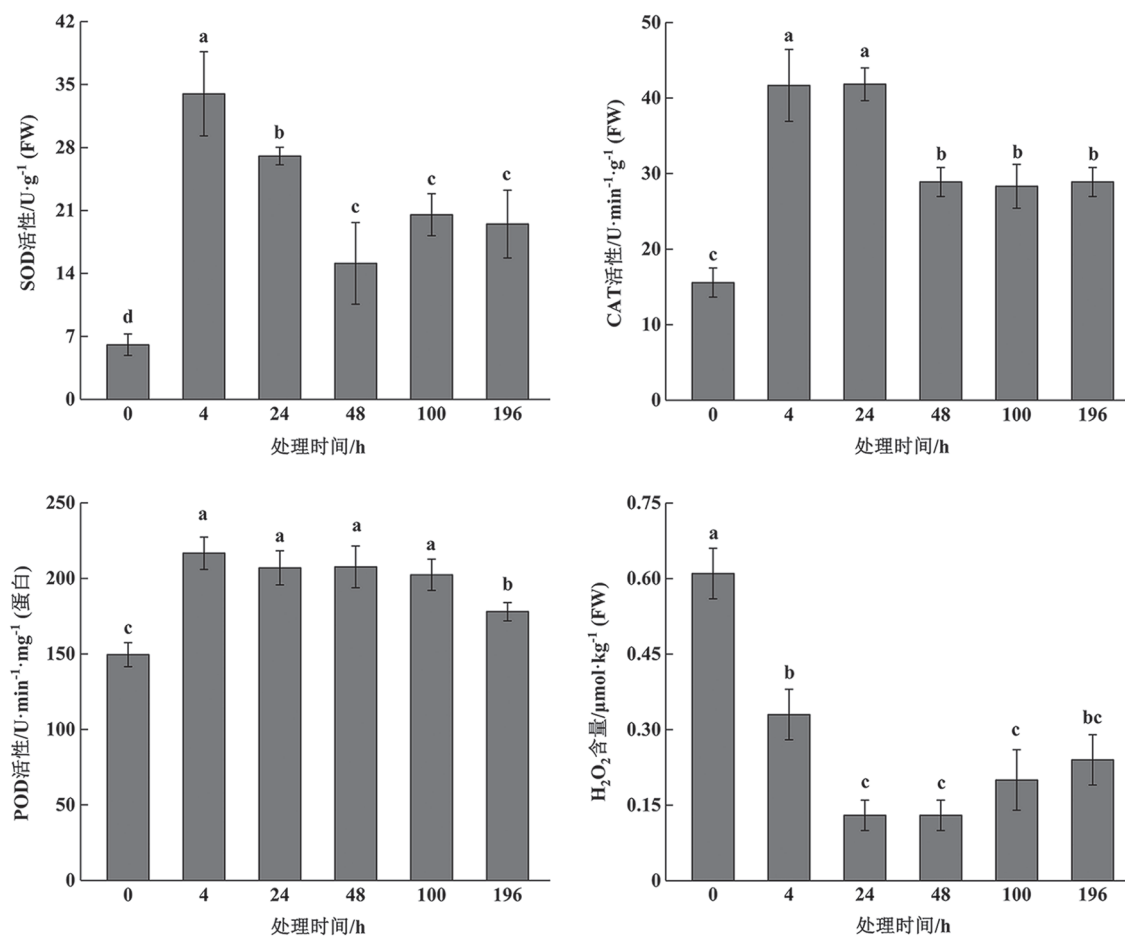


图7 铝对油茶根尖抗氧化酶活性及 H_2O_2 含量的影响

Fig.7 Effect of Al on antioxidant enzyme activities and H_2O_2 content in root tips of *C. oleifera*

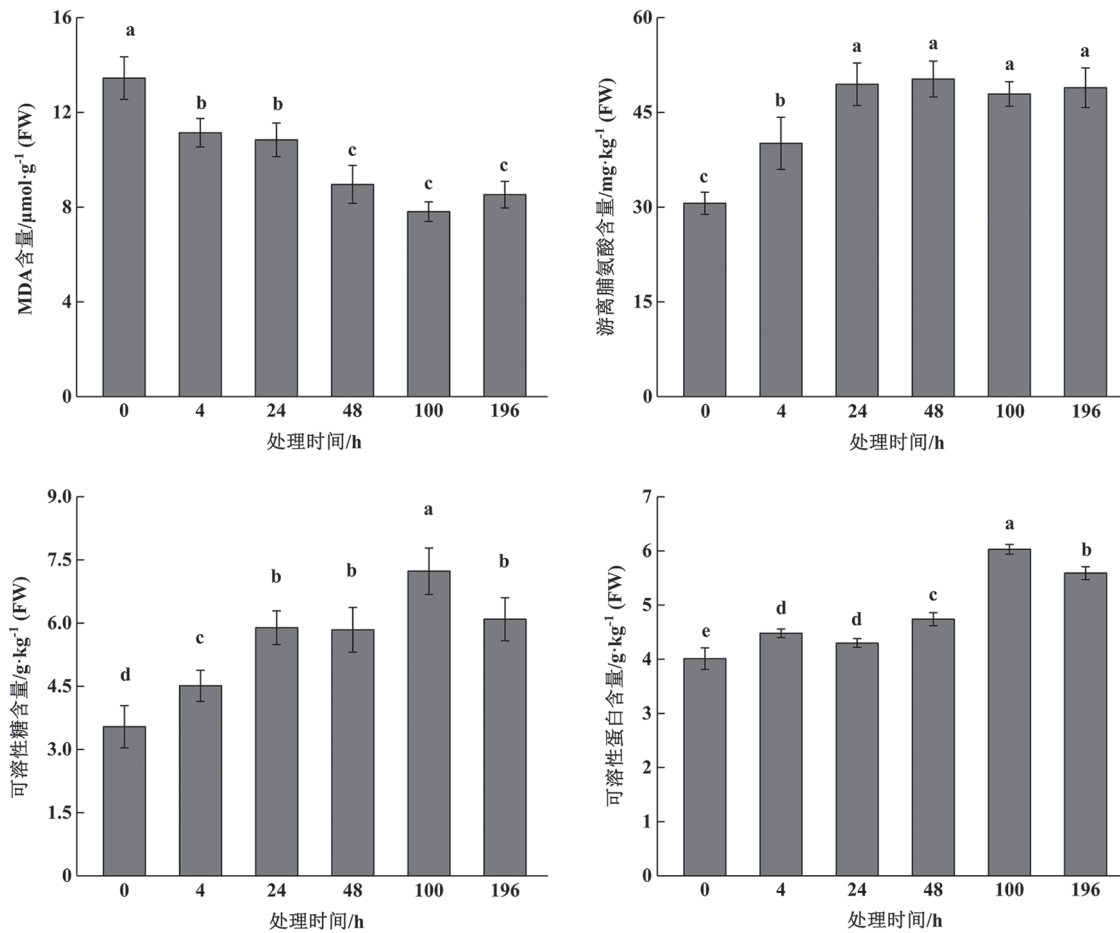


图8 铝对油茶根尖MDA、游离脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白含量的影响

Fig.8 Effects of Al on MDA, free proline, soluble sugar and soluble protein contents in root tips of *C. oleifera*

内切葡聚糖酶(endo- β -1,4-glucanases, EGase)等多糖修饰相关酶以及棒曲霉素(expansin)等相关蛋白含量以降低细胞壁的交联度, 促进细胞分裂伸长(Safari等2018)。

细胞壁是油茶根尖铝的主要累积部位, 随着铝处理时间的增加, 铝在根尖的累积量增加, 根尖累积的铝向细胞壁的分配比重增加, 这与铝在茶中的累积规律一致(Li等2017)。在铝胁迫下, 耐铝植物通过提高铝在细胞壁上的分配比例, 降低铝进入原生质体内部的量来减少铝对生理活动区的毒害(渠心静等2018)。随着铝处理时间增加, 根尖70%以上的铝均累积到细胞壁上, 表明根尖细胞壁具有较强的铝累积能力。油茶根尖细胞壁上的铝主要累积在果胶和HC1组分上, 表明HC1和果胶组分具有较强吸收铝的能力, 这和细胞壁中铝吸收

动力学曲线结果一致(图3)。植物细胞壁中的果胶是一种富含半乳糖醛酸的多糖, 通过果胶甲酯化酶的调控, 将高度甲酯化的位点去甲酯化, 提供易与铝离子结合的电负性位点, 从而将铝固定其上(Li等2017; Gao等2014)。HC1累积铝主要是通过吸附作用将铝固定在半纤维素多糖内, 小麦(*Triticum aestivum*)、玉米(*Zea mays*)、拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)等都是将细胞壁上的大部分铝累积在HC1组分中(Yang等2011)。不同于其他植物的是, 油茶根尖细胞壁果胶和HC1组分均能累积大量的铝, 表明油茶比其他植物具有更强的铝累积和耐铝能力。

PAL催化L-苯丙氨酸转化为反式肉桂酸, 从而合成酚类化合物, 是酚类物质合成的主要途径(Hajiboland等2013a)。本研究表明, 铝处理4 h时PAL活

性显著提高,可溶性酚类物质含量也随着铝处理时间的增加而增加(图4和5),表明PAL活性提高促进可溶性酚类物质合成,增加逆境抵抗能力(Dixon和Paiva 1995)和铝离子螯合能力(Nagata等1992)。很多研究表明缺氮、缺磷、缺硼以及低温强光等均能诱导PAL活性提高(Juszczuk等2003; Kováčik和Bačkor 2007; Dixon和Paiva 1995)。适宜浓度铝处理下, PAL活性提高、可溶性酚合成增加也是对碳代谢途径增强的表现,有利于植物的生长发育(Hajiboland等2013b)。铝与酚类物质在细胞壁上的累积会产生竞争作用,铝在细胞壁上累积会降低酚类物质在细胞壁上的累积以降低细胞壁木质化程度(Hajiboland等2013b),而油茶根尖细胞壁结合态酚含量随着铝处理时间增加呈现提高的趋势(图5),这可能是铝在细胞壁上与酚类物质产生了螯合,该螯合物对于根尖的伸长没有不利影响(Hajiboland等2015)。细胞壁在木质化的过程中能够氧化丁香醛连氮(Pandolfini等1992),因此以丁香醛连氮为底物测定POD活性是表征木质化过程的重要依据。CPO能够与阿魏酸多糖产生交联,增加细胞壁的硬度,促进木质化,降低细胞壁伸长能力(Heidarabadi等2011),细胞壁结合态酚含量的降低常常伴随着CPO的降低(Hajiboland等2013a),但本研究中发现CPO活性随着铝处理时间的增加而降低,但细胞壁结合态酚含量明显上升,可能是铝在细胞壁上与酚类物质结合降低了酚在后续酶反应中的可用性(Hajiboland等2015)。PPO能够将酚类物质氧化为醌类物质,对细胞产生毒害作用(Yoruk和Marshall 2003),铝处理降低了根尖PPO活性,对根系伸长是有利的。

SOD、POD、CAT等抗氧化酶组成的抗氧化酶体系面对胁迫时能清除植物体内活性氧,提高耐受性,其原理是SOD将植物体内 O_2^- 歧化为 H_2O_2 和 O_2 , POD和CAT催化分解 H_2O_2 为 H_2O 和 O_2 (王小平等2009)。铝处理提高了油茶根尖SOD、CAT、POD活性,降低了根尖 H_2O_2 浓度(图7),表明适宜浓度铝处理能诱导提高植物抗氧化防御能力,对抵抗胁迫以及根尖细胞活性氧平衡起到调节作用(Hajiboland等2013b; González-Santana等2012)。本研究中MDA含量随铝处理时间的增加而降低并趋

于稳定,表明抗氧化酶活性的增加对膜脂的形成起到保护作用(王敏等2017)。同时,铝处理也提高油茶根尖可溶性糖、可溶性蛋白、游离脯氨酸含量,表明铝处理提高了细胞的抗逆性(Mukhopadhyay等2012)和碳氮代谢能力,保护植物免受氧化伤害(Hajiboland等2013b)。

综上所述,油茶根尖细胞壁的果胶和HC1能累积吸附大量的铝,因而根尖细胞壁具有很强的铝固定能力,降低了根系铝的可移动性,减少了铝对植物体的毒害。同时,适宜浓度的铝能提高酚类物质合成,降低细胞壁木质化的速度,增强活性氧清除、渗透调节和细胞抗逆能力,表明适宜浓度外源铝供应条件下多种生理响应机制协同促进了油茶根尖伸长。

参考文献(References)

- Apak R, Güçlü K, Demirata B, et al (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12 (7): 1496–1547
- Chen RF, Shen RF, Gu P, et al (2008). Investigation of aluminum-tolerant species in acid soils of South China. *Commun Soil Sci Plan*, 39: 1493–1506
- Delhaize E, Ryan PR (1995). Aluminum toxicity and tolerance in plants. *Plant Physiol*, 107: 315–321
- Dixon RA, Paiva NL (1995). Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell*, 7: 1085–1097
- Gao HJ, Zhao Q, Zhang XC, et al (2014). Localization of fluoride and aluminum in subcellular fractions of tea leaves and roots. *J Agr Food Chem*, 62 (10): 2313–2319
- Ghanati F, Morita A, Yokota H (2005). Effects of aluminum on the growth of tea plant and activation of antioxidant system. *Plant Soil*, 276 (1–2): 133–141
- González-Santana IR, Márquez-Guzmán J, Cram-Heydrich S, et al (2012). *Conostegia xalapensis* (Melastomataceae): an aluminum accumulator plant. *Physiol Plantarum*, 144: 134–145
- Hajiboland R, Bahrami-Rad S, Bastani S (2013a). Phenolics metabolism in boron-deficient tea [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze] plants. *Acta Biol Hung*, 64 (2): 196–206
- Hajiboland R, Bastani S, Bahrami-Rad S, et al (2015). Interactions between aluminum and boron in tea (*Camellia sinensis*) plants. *Acta Physiol Plant*, 37: 54
- Hajiboland R, Rad SB, Barceló J, et al (2013b). Mechanisms of aluminum-induced growth stimulation in tea (*Camellia sinensis*). *J Plant Nutr Soil Sci*, 176: 616–625

- Heidarabadi MD, Ghanati F, Fujiwara T (2011). Interaction between boron and aluminum and their effects on phenolic metabolism of *Linum usitatissimum* L. roots. *Plant Physiol Biochem*, 49: 1377–1383
- Huang L, Yuan J, Wang H, et al (2017). Aluminum stress affects growth and physiological characteristics in oil tea. *HortScience*, 52 (11): 1–7
- Huang LY, Yuan J, Zhou NF, et al (2016). Effects of different phosphates on formation of adventitious roots and physiological and biochemical parameters of *Camellia oleifera*. *Plant Physiol J*, 52 (5): 678–684 (in Chinese with English abstract) [黄丽媛, 袁军, 周乃富等(2016). 不同磷源处理对油茶扦插苗不定根发生及生理生化的影响. *植物生理学报*, 52 (5): 678–684]
- Juszczuk IM, Wiktorowska A, Malusá E, et al (2004). Changes in the concentration of phenolic compounds and exudation induced by phosphate deficiency in bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Soil*, 267: 41–49
- Kopitke PM, Moore KL, Lombi E, et al (2015). Identification of the primary lesion of toxic aluminum in plant roots. *Plant Physiol*, 167: 1402–1411
- Kováčik J, Bačkor M (2007). Changes of phenolic metabolism and oxidative status in nitrogen-deficient *Matricaria chamomilla* plants. *Plant Soil*, 297: 255–265
- Li D, Shu Z, Ye X, et al (2017). Cell wall pectin methyl-esterification and organic acids of root tips involve in aluminum tolerance in *Camellia sinensis*. *Plant Physiol Biochem*, 119: 265–274
- Li X, Li Y, Qu M, et al (2016). Cell wall pectin and its methyl-esterification in transition zone determine Al resistance in cultivars of pea (*Pisum sativum*). *Front Plant Sci*, 7: 39
- Mukhopadhyay M, Bantawa P, Das A, et al (2012). Changes of growth, photosynthesis and alteration of leaf antioxidative defence system of tea [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze] seedlings under aluminum stress. *Biometals*, 25: 1141–1154
- Nagata T, Hayatsu M, Kosuge N (1992). Identify aluminum forms in tea leaves by ^{27}Al NMR. *Phytochemistry*, 31: 1215–1218
- Pandolfini T, Gabbriellini R, Comparini C (1992). Nickel toxicity and peroxidase activity in seedlings of *Triticum aestivum* L. *Plant Cell Environ*, 15: 719–725
- Qu X, Chen X, Dai S, et al (2018). Aluminum contents and subcellular distribution in leaves of 22 kinds of *Camellia* plants. *Mol Plant Breed*, 16 (3): 997–1006 (in Chinese with English abstract) [渠心静, 陈雪燕, 戴生玉等(2018). 22种山茶科植物叶片铝含量及其亚细胞分布. *分子植物育种*, 16 (3): 997–1006]
- Safari M, Ghanati F, Safarnejad MR, et al (2018). The contribution of cell wall composition in the expansion of *Camellia sinensis* seedlings roots in response to aluminum. *Planta*, 247: 381–392
- Tabuchi A, Matsumoto H (2011). Changes in cell-wall properties of wheat (*Triticum aestivum*) roots during aluminum-induced growth inhibition. *Physiol Plantarum*, 112: 353–358
- Wang M, Ning Q, Shi Y (2017). Study on physiological response of tea plant (*Camellia sinensis*) seedlings to different aluminum concentrations. *J Tea Sci*, 37 (4): 356–362 [王敏, 宁秋燕, 石元值(2017). 茶树幼苗对不同浓度铝的生理响应差异研究. *茶叶科学*, 37 (4): 356–362]
- Wang X, Huang J (2015). *Principle and Technology of Plant Physiological and Biochemical Experiments*. 3rd ed. Beijing: Higher Education Press, 103–294 (in Chinese) [王学奎, 黄见良(2015). *植物生理生化实验原理与技术*. 第3版. 北京: 高等教育出版社, 103–294]
- Wang XP, Liu P, Luo H (2009). Effect of Al and F interaction on physiological characteristics of tea plants. *Acta Hort Sin*, 36 (9): 1359–1364 (in Chinese with English abstract) [王小平, 刘鹏, 罗虹等(2009). 铝氟交互处理对茶树生理特性的影响. *园艺学报*, 36 (9): 1359–1364]
- Yang C, Liu X, Chen Z, et al (2016). Comparison of oil content and fatty acid profile of ten new *Camellia oleifera* cultivars. *J Lipids*: 3982486
- Yang JL, Zhu XF, Peng YX, et al (2011). Cell wall hemicellulose contributes significantly to aluminum adsorption and root growth in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 155: 1885–1892
- Yoruk R, Marshall MR (2003). Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: a review. *J Food Biochem*, 27: 361–422
- Zeng QL, Chen RF, Zhao XQ, et al (2011). Aluminum uptake and accumulation in the hyperaccumulator *Camellia Oleifera* Abel. *Pedosphere*, 21 (3): 358–364
- Zhang Z, Qu W, Li X (2016). *Experimental Guidance on Plant Physiology*. 4th ed. Beijing: Higher Education Press, 103–270 (in Chinese) [张志良, 瞿伟菁, 李小芳(2016). *植物生理学实验指导*. 第4版. 北京: 高等教育出版社, 103–270]
- Zheng SJ, Lin X, Yang J, et al (2004). The kinetics of aluminum adsorption and desorption by root cell walls of an aluminum resistant wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivar. *Plant Soil*, 261: 85–90

Aluminum accumulation and its effects on contents of substances involved in phenols metabolism and antioxidation in root tips of *Camellia oleifera*

QU Xin-Jing, FENG Xue-Rui, ZHANG Ze-Lian, GENG Rui, YUAN Jun*

Key Laboratory of Cultivation and Protection for Non-wood Forest Trees, Ministry of Education, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China

Abstract: Cutting seedlings of *Camellia oleifera* ‘Huajin’ were treated with 0 or 1 mmol·L⁻¹ aluminum (Al) and the contents of Al and substances involved in phenols metabolism and antioxidation of root tips (≈2 cm) were determined after 4, 24, 48, 100 and 196 h treatments. The results show that Al content of root tips increased with treating time, and Al content in cell wall was 73.10% of that in root tips. Pectin and hemicellulose 1 (HC1) in cell wall had strong Al accumulation and adsorption ability. Meanwhile, phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity and contents of soluble phenol and cell wall-bound phenol increased, whereas activity of polyphenol oxidase (PPO) and covalently bound peroxidase (CPO) decreased under Al treatments. Addition of Al increased the activities of superoxide dismutase (POD), catalase (CAT) and peroxidase (POD), while decreased the contents of H₂O₂ and malondialdehyde (MDA). Al supply also increased the contents of soluble sugar, soluble protein and free proline. The results suggest that the strong capability of Al adsorption and accumulation of pectin and HC1 in root tips of *C. oleifera* decreased the toxicity of Al. And 1 mmol·L⁻¹ Al can increase the contents of phenols and decrease the activity of CPO, which is beneficial to enhance Al-stress tolerance and reduce cell wall lignification. In the meantime, increase of reactive oxygen species scavenging and osmotic regulation contributes to the stability of intracellular environment. Overall, the synergistic effect of various physiological response under suitable supply of Al improves the elongation of root tips of *C. oleifera*.

Key word: root tip; cell wall; aluminum accumulation; phenols; antioxidase

Received 2019-03-28 Accepted 2019-08-04

This work was supported by Key R&D Project of Hunan Province (2017NK2201).

*Corresponding author (yuanjunchina@126.com).