

茶氨酸对烟草幼苗生长及生理特性的影响

单丹丹¹, 张清莉², 郭家明², 刘松², 陈祝², 周桃华^{1*}, 陈学平^{2*}

(1. 安徽农业大学农学院, 合肥 230036; 2. 中国科学技术大学烟草与健康研究中心, 合肥 230041)

摘要: 为了研究茶氨酸对烟草幼苗生长及生理特性的影响, 以云烟 87 为材料, 进行水培试验, 对不同茶氨酸浓度 (0、0.5、1 和 5 mmol·L⁻¹) 处理下烟草幼苗的生长特征及部分生化指标进行测定。结果表明, 茶氨酸会使烟草幼苗根长变短, 地上部分、地下部分干重和鲜重、根冠比以及叶绿素含量明显降低; 可溶性蛋白、脯氨酸和还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量升高; 超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD) 活性升高, 过氧化氢酶 (CAT) 活性降低, 抗氧化酶系统失衡导致 H₂O₂ 在烟草幼苗体内累积引起膜脂氧化造成损伤, 丙二醛 (MDA) 含量及相对电导率相应的升高进一步说明了上述结论。由此可见, 外源施加茶氨酸会使烟草幼苗体内抗氧化系统失衡致使膜脂氧化引发氧化损伤从而抑制其生长。

关键词: 烟草; 茶氨酸; 生理生化特性; 抗氧化系统

中图分类号: S572

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2015)02-0283-07

Influence of theanine on the growth and physiological indexes of tobacco seedlings

SHAN Dandan¹, ZHANG Qingli², GUO Jiaming², LIU Song², CHEN Zhu², ZHOU Taohua¹, CHEN Xueping²

(1. School of Agronomy, Anhui Agricultural University, Hefei 230036;

2. Tobacco and Health Research Center, University of Science and Technology of China, Hefei 230041)

Abstract: In order to elucidate the influence of theanine on the growth and related physiological indexes of tobacco seedlings, Yunyan 87 was used to study the effects of different concentrations of theanine (0, 0.5, 1 and 5 mmol/L) on the growth characteristics and related physiological indexes of tobacco seedlings under the hydroponic cultivation condition. As results, theanine significantly decreased the root length, root dry and fresh weight, shoot dry and fresh weight, root-shoot ratio, and chlorophyll content; however, it significantly increased the content of soluble protein, proline, and GSH. The increase of SOD and POD activities and the decrease of CAT activity caused the unbalance of antioxidant enzyme systems, which ultimately led to the accumulation of H₂O₂ in tobacco seedlings, causing lipid membrane damage. Furthermore, the increase of the relative conductivity and MDA content verified this conclusion. These results showed that application of exogenous theanine could make the antioxidant enzyme system imbalance and cause oxidation reactions. Therefore, we concluded that theanine might inhibit the growth of tobacco seedlings by disturbing the equilibrium of the antioxidant system.

Key words: tobacco; theanine; physiology and biochemistry characteristics; antioxidant system

茶氨酸 (Theanine) 是茶科植物中一种独特的非蛋白氨基酸, 最早由 Sakato 于 1950 年从绿茶中分离出来^[1]。茶叶中茶氨酸含量一般占茶叶干重的 1%~2%, 占游离氨基酸总量的 40%~70%, 近年来, 因为其重要的药理功能和生理活性, 已经成为天然产物开发利用的研究热点^[2], 许多研究表明茶氨酸对人体有抗肿瘤、镇静神经、放松, 降血压, 提高

学习能力等功效^[3-5], 对帕金森氏症、老年性痴呆、传导神经功能紊乱等有预防作用^[6], 同时, 也有研究表明茶氨酸溴香酰胺作为茶氨酸的衍生物, 可以显著地抑制肺癌细胞生长从而发挥抗肿瘤作用^[7], 因此, 茶氨酸的保健功能成为了广泛研究的课题。在动物体内, 有实验表明在非生物胁迫存在的情况下, 茶氨酸可以通过调节热休克蛋白来提高线虫在

收稿日期: 2014-12-04

基金项目: 江西省烟草公司“提高烟草抗逆性新型调节物质研制及应用”(赣烟 2011, 98 号) 项目资助。

作者简介: 单丹丹, 硕士。E-mail: nccd321@ahau.edu.cn

* 通信作者: 周桃华, 副教授。E-mail: zhouth2004@163.com 陈学平, 博士, 教授。E-mail: chenxp08@ustc.edu.cn

热胁迫下生存的寿命^[8], 并且能调节氧化应激的作用和抗氧化系统的状态来缓解氯化铝对老鼠大脑后部的毒害作用^[9]。

目前茶氨酸作为一种外源物质在植物方面的研究尚未见报道。为此, 本研究以水培烟草幼苗为材料, 通过茶氨酸的处理, 从烟草幼苗生长量及生理生化指标参数等角度, 初步探讨了不同浓度茶氨酸对烟草生长及生理生化特性影响, 以期茶氨酸对烟草乃至其他植物研究提供一定的理论参考依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

云烟 87 烟草种子, 由安徽省农业科学院提供。

1.2 处理方法

将烟草种子点播于霍格兰士营养液润湿蛭石表面, 待发芽后长至 3、4 叶真叶期, 取长势一致的幼苗置于含不同浓度茶氨酸 0.5、1 和 5 mmol·L⁻¹ 的霍格兰士营养液中进行培养并作为处理组, 以不加茶氨酸 (0 mmol·L⁻¹) 的作为对照组, 每个处理重复 3 次, 处理 7 d 后, 测定幼苗生长量及生理生化指标。

1.3 测定方法

1.3.1 幼苗生长量测定 调查烟苗长势并测量其地上部分、地下部分干重和鲜重, 同时计算根冠比。

幼苗根长: 从烟草根尖端出到根基部的距离。

根鲜重和冠鲜重: 将烟草叶片表面及根部擦拭干净并擦去多余水分, 称重。

根干重和冠干重: 取烟草幼苗, 105℃ 杀青 15 min, 70~80℃ 下烘干 48 h 至恒重, 待冷却后测定地上部分和根的干物质重量。

根冠比: 植物地下部分与地上部分的干重比值。

1.3.2 各项生理指标测定 可溶性蛋白含量测定采用考马斯亮蓝 G-250 染色法^[10]。

幼苗叶绿素含量测定采用浸提法, 取 0.20 g 新鲜叶片剪碎置于试管中, 加入 0.5 mL 纯丙酮和 15 mL 80% 丙酮, 室温避光浸提过夜, 叶组织全部变白时, 用 80% 丙酮定容至 25 mL, 摇匀, 提取液分别在 645 nm、663 nm 和 652 nm 下比色, 测定 OD 值。

叶片相对电导率的测定采用 Lutts 等^[11]的方法并按实际情况略作修改, 取 1 g 新鲜叶, 蒸馏水洗净表面 2 次后置于 25 mL 蒸馏水的烧杯中浸泡 24 h, 测定电导率 (L_1), 测定完后将烧杯进行沸水浴 30 min, 取出冷却, 补充蒸馏水到原来位置, 测定电导率 (L_2)。相对电导率 (%) = $L_1/L_2 \times 100\%$

游离脯氨酸含量采用茚三酮试剂法, 取新鲜叶片约 0.10 g, 剪碎后放入装有 5 mL 3% 磺基水杨酸

溶液的试管中, 沸水浴 10 min, 取出冷却至室温后取上清液 2 mL (对照为 2 mL 双蒸水) 加 2 mL 冰醋酸和 3 mL 2.5% 茚三酮显色液, 沸水浴 40 min, 冷却后加入 5 mL 甲苯萃取, 静置分层后在 520 nm 波长下测吸光度值。脯氨酸标准曲线绘制参照 Michael 等^[12]的方法。

MDA 含量测定采用硫代巴比妥酸法^[10]并稍作修改, 取 0.20 g 新鲜叶片, 加入 2 mL 10% TCA 和少量石英砂, 研磨至匀浆, 12000 r·min⁻¹ 离心 10 min。取上清液 2 mL (对照为 2 mL 10% TCA), 加入 2 mL 0.6% TBA 溶液, 混匀后于沸水中反应 15 min, 迅速冷却后离心, 取上清液分别于 523 nm、600 nm 和 450 nm 测吸光度值。

酶液提取: 取新鲜叶片约 0.20 g, 置于预冷研钵中, 加入 2 mL pH 7.0 50 mmol·L⁻¹ 磷酸缓冲液 (含 0.1 mmol·L⁻¹ EDTA Na₂, 1% PVP) 和少量石英砂, 冰上快速研磨, 12000 r·min⁻¹ 离心 15 min, 取上清酶液 4℃ 冷藏备用。

SOD 酶活性的测定参照 Bellamkonda 等^[13]的方法, 略作修改。将 1.5 mL pH 7.8 50 mmol·L⁻¹ 磷酸缓冲液中加入 0.3 mL 130 mmol·L⁻¹ 甲硫氨酸溶液、0.3 mL 750 μmol·L⁻¹ NBT、0.3 mL 100 μmol·L⁻¹ EDTA Na₂、0.5 mL 蒸馏水、0.3 mL 20 μmol·L⁻¹ 核黄素, 最后加入 0.1 mL 酶液 (2 只对照管加入 0.1 mL pH 7.0 50 mmol·L⁻¹ 磷酸缓冲液), 混匀后, 其中一只对照管遮光, 置于日光灯下反应 30 min, 测定 560 nm 波长的吸光度值。

过氧化物酶 (POD) 参照 Bellamkonda 等^[13]的方法稍作修改。0.7 mL pH 5.5 50 mmol·L⁻¹ 磷酸缓冲液 (含 0.1 mmol·L⁻¹ EDTA Na₂), 加入 1 mL 2% H₂O₂ 和 1 mL 0.05 mmol·L⁻¹ 愈创木酚, 混合后加入 0.3 mL 酶液 (空白用 0.3 mL 缓冲液替换), 37℃ 水浴 15 min, 测定 470 nm 波长的吸光度值。

CAT、H₂O₂ 测定采用南京建成生物试剂公司 CAT、H₂O₂ 试剂盒测定。

1.3 数据处理

所得数据用 Origin 统计软件进行数据统计分析, 试验数据表示平均值±偏差, 采用单因素方差分析, 置信区间 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 茶氨酸对烟草幼苗生长的影响

经过不同浓度茶氨酸处理, 烟草幼苗各项形态指标表现出显著差异。从图 1A 可以看出, 与对照组相比, 随着茶氨酸浓度增大, 烟苗长势变弱, 出

现黄叶,同时,从图 1B 及表 1 中根长的数据可以看出,烟草幼苗根长随着茶氨酸浓度增大而变短,表现出茶氨酸对烟草根的生长有抑制作用。植物体干物质重量反应的是植株生长的健壮程度,如表 1 所示,茶氨酸处理后的烟苗与对照组的地上部分冠干重和冠鲜重相比均降低,地下部分根鲜重及根干重

也比对照组低,均呈现明显差异。对照组根冠比高于茶氨酸处理的烟苗,0.5 mmol·L⁻¹ 茶氨酸及 1 mmol·L⁻¹ 茶氨酸处理后烟苗的根冠比与对照组无明显差异,茶氨酸为 5 mmol·L⁻¹ 时根冠比差异显著。结合烟草表型及数据可以得出茶氨酸影响了烟草幼苗的生长。

表 1 茶氨酸对烟草幼苗生长的影响
Table 1 Effect of theanine on the growth of tobacco seedlings

茶氨酸浓度 /mmol·L ⁻¹ Theanine content	根长/cm Root length	地上部 Aboveground part		地下部 Underground part		根冠比 Root-shoot ratio
		冠鲜重/g Crown fresh weight	冠干重/g Crown dry weight	根鲜重/g Root fresh weight	根干重/g Root dry weight	
0	16.27	3.395±0.508 ^a	0.242±0.049 ^a	0.905±0.166 ^a	0.052±0.014 ^a	0.212±0.016 ^a
0.5	10.97	2.183±0.156 ^b	0.179±0.008 ^b	0.532±0.108 ^b	0.034±0.008 ^b	0.188±0.033 ^a
1	10.67	1.895±0.187 ^b	0.196±0.017 ^b	0.542±0.164 ^b	0.040±0.013 ^{ab}	0.199±0.047 ^a
5	7.73	1.381±0.134 ^c	0.160±0.020 ^{bc}	0.216±0.023 ^c	0.018±0.003 ^c	0.115±0.014 ^b

注: 茶氨酸浓度 0 mmol·L⁻¹ 为对照组, 茶氨酸浓度 0.5、1 和 5 mmol·L⁻¹ 为处理组。同列不同字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。

Note: Control group: 0 mmol·L⁻¹ of theanine; treatment group: 0.5, 1 and 5 mmol·L⁻¹ of theanine, respectively. The different letters in the same column indicated significant difference at the 0.05 level.

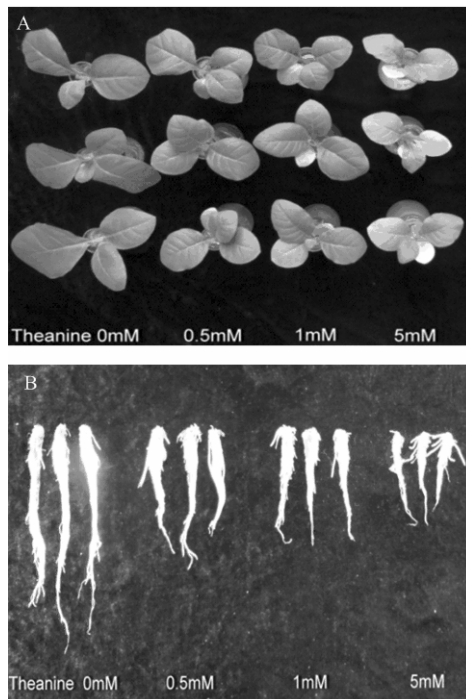


图 1 茶氨酸对烟草幼苗生长表型 (A) 及根长 (B) 影响
Figure 1 Effects of theanine on phenotype (A) and root length (B) of tobacco seedlings

2.2 茶氨酸对烟草幼苗可溶性蛋白含量的影响

可溶性蛋白是植物所有蛋白质组分中最活跃的一部分,包括各种酶源、酶分子和代谢调节物,其含量的多少不仅反映植株氮素代谢水平,而且与植物体代谢和衰老有密切的关系^[14-15]。亲水性较强的

可溶性蛋白能增强细胞的持水力从而提高植物的抗寒性^[16]。有研究表明,可溶性蛋白作为一种渗透调节剂,高温胁迫下其在植物体的含量一方面反映了植物细胞受伤害的程度,另一方面说明了植物通过可溶性蛋白的累积来缓解逆境胁迫造成的伤害^[17],因此,可溶性蛋白含量与植物抗逆性密切相关。

试验中测定不同茶氨酸浓度 (0、0.5、1 和 5 mmol·L⁻¹) 处理下可溶性蛋白的含量,如图 2A 所示,随着茶氨酸浓度增大,可溶性蛋白含量分别为 9.33、16.16、17.35 和 17.73 mg·g⁻¹,呈逐渐上升趋势,与对照组相比,茶氨酸处理后可溶性蛋白含量分别升高 73.20%、85.96%和 90.03%,呈显著差异。由此可见,烟草幼苗可溶性蛋白含量的升高可能是烟草幼苗响应茶氨酸胁迫的结果。

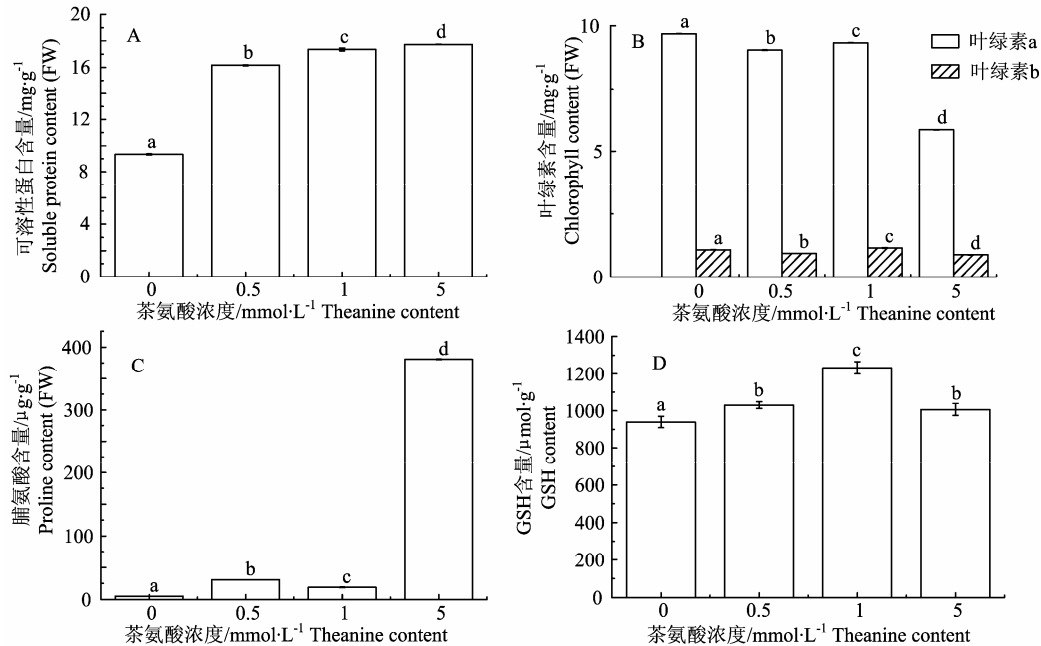
2.3 茶氨酸对烟草幼苗叶绿素含量的影响

叶绿素作为植物进行光合作用的重要色素,在叶绿体中具有捕获光能并驱动电子转移到反应中心的功能^[18],其含量多少直接影响叶片的光合能力,因此叶绿素在植物的生长及农作物产量的形成中具有极其重要的作用。

试验中分别测定不同茶氨酸浓度 (0、0.5、1 和 5 mmol·L⁻¹) 处理下叶绿素 a 和叶绿素 b 的含量。从图 2B 可以看出,烟草幼苗经茶氨酸处理后,叶绿素 a 含量分别为 9.68、9.04、9.33 和 5.86 mg·g⁻¹,比对照组分别降低 6.62%、3.65%和 39.47%,差异显著,其中 5 mmol·L⁻¹ 茶氨酸处理后,叶绿素含量

降低最明显。叶绿素 b 含量分别为 1.09、0.94、1.16 和 0.88 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 0.5 和 5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 茶氨酸处理后叶绿素 b 与对照组相比分别降低 13.96% 和 18.72%, 呈显著差异, 1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 茶氨酸处理后叶绿素 b 含量比对照组升高 6.90%。叶绿素 a 与叶绿素 b 的和为

叶绿素总含量, 经计算, 叶绿素总含量为 10.77、9.98、10.49 和 6.75 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 与对照组相比均有不同程度的下降, 可见, 茶氨酸可能影响烟草幼苗的光合作用能力。



茶氨酸浓度 0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 为对照组, 茶氨酸浓度 0.5、1 和 5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 为处理组。同列不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。下同

Control group: 0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ of theanine; treatment group: 0.5, 1 and 5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ of theanine, respectively. The different letters in the same column indicated significant difference at the 0.05 level. The same below

图 2 茶氨酸对烟草幼苗可溶性蛋白 (A)、叶绿素 (B)、脯氨酸 (C) 及 GSH (D) 含量的影响

Figure 2 Effects of theanine on the contents of soluble protein (A), chlorophyll (B), proline (C) and GSH (D) of tobacco seedlings

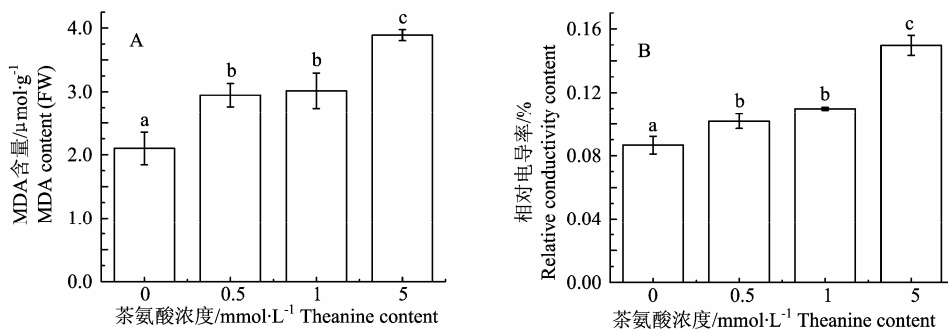


图 3 茶氨酸对烟草幼苗 MDA 含量 (A) 和相对电导率 (B) 的影响

Figure 3 Effects of theanine on the content of MDA (A) and the relative conductivity (B) of tobacco seedlings

2.4 茶氨酸对烟草叶片脯氨酸含量的影响

脯氨酸是植物体内最有效的渗透调节物质之一^[19], 许多植物在受到逆境胁迫时都能积累高水平的脯氨酸。植物的脯氨酸合成、累积及代谢是一个受非生物胁迫和细胞内脯氨酸浓度调控的生理生化过程, 因此, 脯氨酸的积累可能是植物受到胁迫的

一种信号^[20]。有学者把植物在逆境胁迫条件下, 脯氨酸质量分数的变化作为抗胁迫性的重要生理指标, 但是有人认为脯氨酸积累只是胁迫的结果, 与抗胁迫性缺少相关性^[21-22]。

从图 2C 可以看出, 脯氨酸含量分别为 5.20、30.9、19.08 和 380.90 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 经过茶氨酸处理的烟

草幼苗, 脯氨酸含量均升高, 茶氨酸浓度为 $0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 脯氨酸含量比对照组升高将近 5 倍, 茶氨酸浓度为 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 脯氨酸含量为对照组的 2.7 倍, 当茶氨酸浓度达到 $5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 脯氨酸浓度急剧增高, 此时, 可能浓度过高的茶氨酸对烟草幼苗形成胁迫, 从而使得烟苗体内脯氨酸含量升高, 反映出烟草幼苗受到伤害的程度加重。

2.5 茶氨酸对烟草叶片还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量的影响

还原型谷胱甘肽 (GSH) 作为细胞内的一种抗氧化剂, 是植物体内非常重要的自由基清除剂, 能

够抵抗活性氧等自由基对细胞造成的破坏, 对抵抗逆境胁迫有重要作用^[23]。GSH 合成与代谢相关酶类活性的提高, 可以增加植物对各种环境胁迫的抵抗能力。

由图 2D 可以看出, 在不同浓度茶氨酸处理下, GSH 含量分别为 939.84、1030.71、1232.17 和 $1007.15 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$, 变化为先上升后下降, 但均高于对照组, 与对照组相比, GSH 含量分别升高 9.67%、23.72% 和 7.16%, 呈显著差异, 其中 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 茶氨酸处理后 GSH 含量最高。由此可以看出, GSH 含量升高是烟草机体响应茶氨酸胁迫的结果。

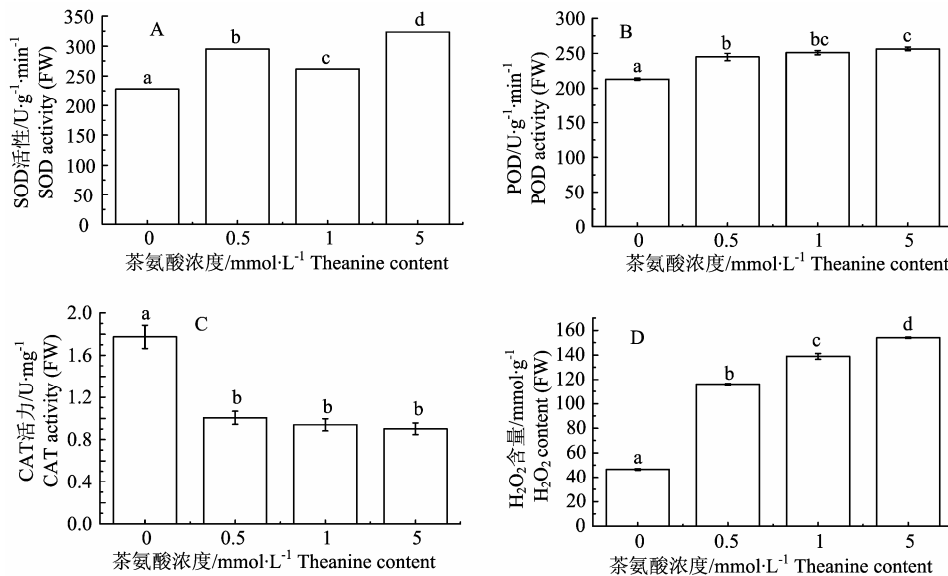


图 4 茶氨酸对烟草幼苗 SOD (A)、POD (B)、CAT (C) 和 H₂O₂ (D) 的影响

Figure 4 Effect of theanine on activities of SOD (A), POD (B), CAT (C) and the content of H₂O₂ (D) of tobacco seedlings

2.6 茶氨酸对烟草叶片丙二醛 (MDA) 含量和相对电导率的影响

丙二醛 (MDA) 和相对电导率都是反映细胞膜伤害程度的重要指标。MDA 是脂肪酸氧化的最终分解产物^[24]和植物体受到活性氧毒害的表现, 因此, 通常被用来表示细胞膜脂过氧化程度和植物衰老及对逆境条件反应强弱的指标^[25]。植物在受到逆境胁迫或其他损伤的情况下细胞膜容易破裂, 膜蛋白受伤害因而使胞质的胞液外渗而使相对电导率增大。细胞膜受到破坏的程度, 可由电导率的变化反映出来, 相对电导率越低, 细胞受到的伤害越小^[26]。

由图 3A 可以看出, 在不同浓度茶氨酸处理下, MDA 含量分别为 2.10、2.95、3.02 和 $3.89 \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$, 变化呈上升趋势, 与对照组相比, MDA 含量分别升高 40.48%、43.81% 和 85.24%, 呈显著差异。如图 3B 所示, 叶片相对电导率分别为 8.67%、10.17%、

10.99% 和 14.97%, 呈上升趋势, 与对照组烟苗相比分别升高 17.30%、26.76% 和 72.66%, 差异呈显著水平。结果表明, 随着茶氨酸浓度增大, 烟草幼苗相对电导率和 MDA 的含量相应升高, 可以得出茶氨酸会使烟草幼苗细胞膜系统遭到破坏。

2.7 茶氨酸对抗氧化酶活性及 H₂O₂ 含量的影响

正常情况下, 植物体内有一套抗氧化系统负责对活性氧的清除, 维持着植物体内活性氧产生与清除处于正常的平衡状态。超氧化物离子(O₂⁻)、羟基自由基(OH·)、过氧化氢(H₂O₂)、单线态氧气(¹O₂)等都是活性氧中的强破坏性分子^[27], 氧化性极强的活性氧对细胞质膜的过氧化会引起膜系统损伤, 过氧化物酶 (POD) 与超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 相互协调配合, 清除过剩的活性氧, 使植物体内的活性氧维持在正常动态平衡状态^[28]。SOD 通过催化两个 O₂⁻ 发生歧化反应生成 H₂O₂ 和

O_2 , 使植物体内的 O_2^- 及时被清除。POD 能清除胁迫因子诱导产生的活性氧, 是活性氧胁迫下植物体内有毒物质 H_2O_2 的重要清除剂。CAT 是抗氧化酶系统的重要组成部分, 可以将细胞内的 H_2O_2 分解成水, 从而使细胞免于遭受 H_2O_2 的毒害^[29]。

试验分别测定不同茶氨酸浓度 (0、0.5、1 和 5 $mmol \cdot L^{-1}$) 处理下 SOD、POD 和 CAT 的活性以及 H_2O_2 含量。如图 4A 所示, 不同浓度茶氨酸处理后, SOD 活性分别为 228.02、295.18、261.83 和 323.48 $U \cdot g^{-1}$, 与对照组相比分别升高 29.45%、14.83% 和 41.86%, 呈显著差异。从图 4B 可看出, POD 活性分别为 213.00、244.77、250.98 和 256.47 $U \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$, 呈上升趋势, 与对照组相比, 茶氨酸处理后的烟苗 POD 活性升高, 和对照组相比分别升高 14.92%、17.83% 和 20.41%, 并呈显著差异。然而经过不同浓度茶氨酸处理后的 CAT 活性分别为 1.77、1.01、0.93 和 0.90 $U \cdot mg^{-1}$, 呈逐渐下降趋势 (见图 4C), 与对照组相比, CAT 活性分别降低 42.94%、47.46% 和 49.15%, 茶氨酸浓度增大, CAT 活性越低, 并与对照组呈显著差异。由图 4D 可知, 经过不同浓度茶氨酸处理后, H_2O_2 含量分别为 46.61、116.11、138.89 和 154.01 $mmol \cdot g^{-1}$, 呈逐渐上升趋势, 与对照组相比分别升高 149.11%、197.98% 和 230.42%, 差异显著。可以看出, 经过茶氨酸处理, 烟草幼苗体内抗氧化酶活性发生变化, SOD 活性升高转化出更多 H_2O_2 , POD 活性虽然上升, 但由于 CAT 活性大幅度降低, 使烟草幼苗体内抗氧化系统无法维持原有平衡, 导致大量 H_2O_2 无法分解并在烟草幼苗体内累积, 致使烟草幼苗产生不同程度膜脂氧化, 对幼苗机体造成损伤。

3 讨论

本试验发现不同浓度茶氨酸的对烟草幼苗生长产生了不同程度的抑制作用。随着茶氨酸浓度的增加, 烟草幼苗地上部分及地下部分干鲜重、根冠比呈下降趋势, 根长变短, 生长状况变差; 处理后的烟草幼苗可溶性蛋白质含量和脯氨酸以及 GSH 含量升高, 但是叶绿素含量降低, 导致光合作用减弱, 光合效率降低, 从而使得烟叶发黄, 这也是茶氨酸导致烟苗生长缓慢的原因。

随着茶氨酸浓度增大, 烟草幼苗体内 SOD、POD 酶活性升高, CAT 活性降低。SOD 将 O_2^- 转化为 H_2O_2 和 O_2 , POD 和 CAT 发挥作用将烟草体内过多的 H_2O_2 清除从而降低活性氧的毒害作用, 但是由于茶氨酸处理后烟草幼苗体内抗氧化系统酶活性

的改变不能保持原有的正常水平, 使得活性氧的产生与清除之间的平衡被破坏, 活性升高的 SOD 将 O_2^- 转化为 H_2O_2 时, POD 和活性下降的 CAT 无法大量累积的 H_2O_2 清除保持在正常水平, 使得 H_2O_2 含量上升, 过量的 H_2O_2 累积在幼苗体内加剧了烟草幼苗膜脂过氧化, 使膜的结构和功能遭到破坏, 引起一系列生理生化代谢紊乱, 导致伤害发生, 对烟草机体形成氧化损伤, 作为渗透调节物质的可溶性蛋白以及脯氨酸含量的升高正是茶氨酸对烟草机体氧化损伤结果的体现。从 MDA 含量和相对电导率相应升高也可以看出随着茶氨酸浓度增加烟草幼苗受到伤害越严重, 烟草幼苗因为氧化损伤从而使生长受到抑制, 生长状况变差。因此可得出一个结论: 茶氨酸通过破坏烟草幼苗体内的抗氧化系统抑制了烟草幼苗的生长。

虽然茶氨酸对动物乃至人类的保健功能已经得到广泛应用, 但有关其对烟草乃至其他植物的影响尚需进一步研究。

参考文献:

- [1] Sakato Y. The chemical constituents of tea III. A new amide theanine [J]. Nippon Nogeikagaku Kaishi, 1949, 23: 262-267.
- [2] 施倩, 陈林, 张正竹, 等. 茶叶中 L-茶氨酸 HPLC-PDAD 分析方法的建立[J]. 安徽农业大学学报, 2006, 33(3): 347-350.
- [3] Zhang G Y, Miura Y, Yagasaki K. Effects of dietary powdered green tea and theanine on tumor growth and endogenous hyperlipidemia in hepatoma-bearing rats [J]. Biosci Biotech Bioch, 2002, 66(4): 711-716.
- [4] Liu Q, Duan H, Luan J, et al. Effects of theanine on growth of human lung cancer and leukemia cells as well as migration and invasion of human lung cancer cells [J]. Cytotechnology, 2009, 59(3): 211-217.
- [5] Juneja L R, Chu D-C, Okubo T, et al. L-theanine—a unique amino acid of green tea and its relaxation effect in humans[J]. Trends Food Sci Technol, 1999, 10(6): 199-204.
- [6] Bradshaw D M, Arceci R J. Clinical relevance of transmembrane drug efflux as a mechanism of multidrug resistance[J]. Journal of Clinical Oncology, 1998, 16(11): 3674-3690.
- [7] 陈林林, 季德鑫, 刘欣, 等. 茶氨酸溴香酰胺对肺癌细胞生长的影响与其作用分子机制的研究[J]. 安徽农业大学学报, 2013, 40(2): 242-249.
- [8] Gong Y S, Luo Y F, Huang J A, et al. Theanine improves the stress resistance in *Caenorhabditis elegans* [J]. Journal of Functional Foods, 2012, 4(4): 988-993.
- [9] Sumathi T, Shobana C, Thangarajeswari M, et al. Protective effect of L-theanine against aluminium induced neurotoxicity in cerebral cortex, hippocampus and cerebellum of rat brain-histopathological, and biochemical approach

- [J]. *Drug and Chemical Toxicology*, 2015, 38(1): 22-31.
- [10] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [11] Lutts S, Kinet J M, Bouharmont J. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance [J]. *Annals of Botany*, 1996, 78: 389-398.
- [12] Michael P I, Krishnaswamy M. The effect of zinc stress combined with high irradiance stress on membrane damage and antioxidative response in bean seedlings [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2011, 74: 171-177.
- [13] Ramakrishna B, Rao S S R. 24-Epibrassinolide alleviated zinc-induced oxidative stress in radish (*Raphanus sativus* L.) seedlings by enhancing antioxidative system [J]. *Plant Growth Regul*, 2012, 68(2): 249-259.
- [14] 郭峰, 万书波, 王才斌, 等. 麦套花生氮素代谢及相关酶活性变化研究[J]. *植物营养与肥料学报*, 2009, 2: 416-421.
- [15] 张杰, 邹学忠, 杨传平, 等. 硝酸还原酶和可溶性蛋白对蒙古栎种源生长的影响[J]. *植物研究*, 2006, 25(3): 317-321.
- [16] 朱政, 蒋家月, 江昌俊, 等. 低温胁迫对茶树叶片 SOD, 可溶性蛋白和可溶性糖含量的影响[J]. *安徽农业大学学报*, 2011, 38(1): 24-26.
- [17] 李同根, 王康才, 罗庆云, 等. Ca^{2+} 对皖贝母高温胁迫下抗逆生理指标及光合作用的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2012, 18(3): 765-770.
- [18] Fromme P, Melkozernov A, Jordan P, et al. Structure and function of photosystem I: interaction with its soluble electron carriers and external antenna systems [J]. *FEBS Letters*, 2003, 555(1): 40-44.
- [19] Delauney A J, Verma D P S. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants [J]. *The Plant Journal*, 1993, 4(2): 215-223.
- [20] 朱虹, 祖元刚, 王文杰, 等. 逆境胁迫条件下脯氨酸对植物生长的影响[J]. *东北林业大学学报*, 2009, 37(4): 86-89.
- [21] Mofteh A E, Michel B E. The effect of sodium chloride on solute potential and proline accumulation in soybean leaves [J]. *Plant Physiology*, 1987, 83(2): 238-240.
- [22] Hanson A D, Nelsen C E, Pedersen A R, et al. Capacity for proline accumulation during water stress in barley and its implications for breeding for drought resistance [J]. *Crop Science*, 1979, 19(4): 489-493.
- [23] Noctor G, Foyer C H. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control [J]. *Annual Review of Plant Biology*, 1998, 49(1): 249-279.
- [24] Apel K, Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2004, 55: 373-399.
- [25] Bienfait H F. Mechanisms in Fe-efficiency reactions of higher plants [J]. *Journal of Plant Nutrition*, 1988, 11(6/11): 605-629.
- [26] Cristinzo G, Scala F. Electrolyte leakage as a potential method for measuring of eggplant resistance and *V. dahliae* virulence [J]. *Phytopathology*, 1994, 29(4): 184-190.
- [27] Gadjev I, Stone J M, Gechev T S. Programmed cell death in plants: new insights into redox regulation and the role of hydrogen peroxide [J]. *International Review of Cell and Molecular Biology*, 2008, 270: 87-144.
- [28] 梁艳荣, 胡晓红, 张颖力, 等. 植物过氧化物酶生理功能研究进展[J]. *内蒙古农业大学学报: 自然科学版*, 2003, 24(2): 110-113.
- [29] Miller G, Shulaev V, Mittler R. Reactive oxygen signaling and abiotic stress [J]. *Physiologia Plantarum*, 2008, 133(3): 481-489.