

外源硫化氢对盐胁迫下茶树抗氧化特性的影响

黄茜, 郭莎莎, 陈良超, 肖斌*

西北农林科技大学园艺学院, 陕西杨凌712100

摘要: 为了探讨盐胁迫下外源硫化氢(H_2S)对茶树抗氧化系统的调节作用, 本研究以茶树品种‘平阳特早’为试验材料, 通过不同浓度(0、0.05、0.1、0.5 $mmol \cdot L^{-1}$) H_2S 供体硫氢化钠(NaHS)喷施处理来测定盐胁迫下对茶树比叶重、根系活力、抗氧化酶活性、抗氧化剂含量和活性氧(ROS)积累特征及膜脂质过氧化水平的影响。结果显示: 100 $mmol \cdot L^{-1}$ NaCl处理显著降低茶树比叶重、叶绿素含量和根系活力, 增加叶片电解质渗透率及过氧化氢(H_2O_2)、超氧阴离子(O_2^-)和丙二醛(MDA)含量; 0.1 $mmol \cdot L^{-1}$ NaHS喷施处理显著增强盐胁迫下茶树叶片抗氧化酶(SOD、POD、CAT、APX和GR)活性和非酶抗氧化剂(AsA和GSH)含量, 提高了叶片中游离脯氨酸(Pro)和可溶性蛋白含量, 却显著降低了叶片电解质渗透率及 H_2O_2 、 O_2^- 和MDA的积累。以上结果说明, 外源 H_2S 能够提高盐胁迫下茶树的抗氧化水平, 降低ROS的积累, 保护细胞膜的完整性, 从而减轻盐胁迫引起的氧化损伤, 提高茶树对盐胁迫的适应能力, 并以0.1 $mmol \cdot L^{-1}$ NaHS喷施处理效果最佳。

关键词: 茶树; 硫化氢; 盐胁迫; 抗氧化能力

土壤盐渍化作为一个全球性的生态环境问题, 严重影响了植物的种植推广和品质产量。据统计, 我国盐渍土总面积为 34.7×10^6 hm^2 , 陕西省的盐渍土面积约有 3.0×10^4 hm^2 (孙剑虹等2014)。土壤盐渍化不仅导致我国部分地区耕地面积减少, 作物产量降低, 也严重影响了茶树在我国盐碱地区的推广种植和品质产量(周旋等2015)。盐胁迫会引起植物细胞中活性氧(reactive oxygen species, ROS)的积累, 产生渗透胁迫和离子毒害, 进而影响植物的生长发育(Sergey和Tracey 2012; Hasanuzzaman等2012)。而茶树作为一种喜温惧寒、喜酸怕碱的植物, 很容易受到高温、低温、干旱、盐碱等方面的影响(吴致君等2014), 因此, 寻找有效途径来提高茶树的耐盐性不仅有助于茶树的推广种植, 增加经济效益, 也能为之后其耐盐机理的研究提供参考。

在很长一段时间里硫化氢(H_2S)都被认为是一种有害气体, 而随着科技的进步, 越来越多的研究证实它是一种重要的信号分子存在于细菌、真菌、植物和动物等多种生物体中(Lamattina和García-Mata 2016; 李顺等2015)。近年来, 围绕着 H_2S 的研究成果不断涌现, 它在植物中的作用也不断被揭示, 目前已证实 H_2S 作为一种重要的信号分子参与调节植物的很多生理过程(如种子萌发、气孔运动、根器官形成、光合作用)(Duan等2015; Chen等2011; Zhang等2010, 2009), 还能增强植物对非生物胁迫和生物胁迫的响应能力(如高温、干旱、盐害、重金属污染和病害)(郭鸿鸣等2016; 周凡超等2016;

单长卷和赵元增2015; Li等2014; Chen等2013; 段冰冰和陆巍2014; 闵雄等2016)。有研究报道, H_2S 能够通过调节植物体内抗氧化酶活性、维持细胞内氧化还原平衡和离子平衡来缓解由盐胁迫引起的氧化损伤(Mostofa等2015; Shan等2014)。同时, 这种促进作用呈现剂量依赖性, 即高浓度的 H_2S 对植物是有害的, 低浓度的 H_2S 能和其他信号分子(一氧化氮、一氧化碳以及ROS)协同作用来增强植物的抗逆性(Li等2014; Peng等2016)。目前, H_2S 作为第三种气体信号分子的生理作用在越来越多的植物中被发现, 然而气体信号分子的研究大部分集中在蔬菜和主要的粮食作物上, 有关茶树方面的研究鲜有报道。本文以茶树品种‘平阳特早’为试验材料, 来研究盐胁迫下不同浓度硫氢化钠(NaHS)喷施处理对茶树抗氧化系统的影响, 从而拓展 H_2S 在茶树耐盐性方面的应用研究。

材料与方法

1 试验材料

本试验于西北农林科技大学南校园艺场塑料大棚内进行。供试茶树[*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze]品种为‘平阳特早’(购自西乡县新巢茶叶有限公司), 二年生茶树扦插苗。供试土壤为河沙和

收稿 2016-12-08 修定 2017-03-06

资助 陕西省茶叶产业技术体系建设项目(K3330215131)和陕西省科技统筹重点难题招标项目(2013KTZB-02-01)。

* 通讯作者(E-mail: xiaobin2093@sohu.com)。

草炭(1:1, *V/V*)混合物, 每个塑料盆4 kg, 每盆4株茶树。H₂S供体NaHS购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

2 试验方法

2016年8月底, 挑选长势一致的茶树, 分为2组(每组12盆), 一组每盆浇施400 mL的100 mmol·L⁻¹ NaCl溶液进行盐胁迫处理, 另一组每盆浇施等量的清水。盐胁迫10 d时, 分别配制0 (蒸馏水)、0.05、0.1、0.5 mmol·L⁻¹四个梯度的NaHS溶液, 每个梯度200 mL, 对两组茶树进行叶面喷施处理。试验共设8个处理: (1)对照; (2) 0.05 mmol·L⁻¹ NaHS; (3) 0.1 mmol·L⁻¹ NaHS; (4) 0.5 mmol·L⁻¹ NaHS; (5)盐胁迫; (6)盐胁迫+0.05 mmol·L⁻¹ NaHS; (7)盐胁迫+0.1 mmol·L⁻¹ NaHS; (8)盐胁迫+0.5 mmol·L⁻¹ NaHS。每个处理3个重复, 每盆每次均匀喷施30 mL, 每3 d喷施一次, 每次喷完后覆膜保湿1 h, 共喷施3次。最后一次喷施3 d后进行各项生理指标的测定。

3 测定指标

3.1 比叶重的测定

于各处理中随机取10片叶子, 用0.8 cm打孔器, 在叶片最宽处离主脉两侧的重心位置打孔, 将10个叶圆片放在纸袋中, 105°C杀青15 min, 80°C烘至恒重, 称量计数, 单位面积的叶片干重即为比叶重。

3.2 相对电导率的测定

用蒸馏水将叶片冲洗干净, 滤纸吸净表面水分; 然后用0.6 cm孔径的打孔器避开主脉打取叶圆片, 取10个叶圆片放入注射器中, 加入10 mL蒸馏水, 堵住注射器口抽气, 然后缓缓放入空气, 室温下放置1 h (期间多次振动)。用电导率仪(DDS-307)测初电导值(S_1); 于沸水浴中10 min, 冷却至室温后摇匀, 测终电导值(S_2); 蒸馏水为空白对照, 其电导值记为 S_0 。相对电导率= $(S_1 - S_0) / (S_2 - S_0)$ (苍晶和赵会杰2013)。

3.3 ROS和抗氧化酶活性的测定

取茶树鲜叶0.2 g, 用6 mL 50 mmol·L⁻¹磷酸钠缓冲液(1% PVP, pH 7.0)在冰浴中研磨成匀浆, 4°C条件下12 000×g离心15 min, 取上清用来测定H₂O₂和超氧阴离子(O₂⁻)的含量及抗氧化酶活性。

过氧化氢(hydrogen peroxide, H₂O₂)含量采用分光光度计法测定(周旋2014); O₂⁻含量采用羟胺氧

化法测定, 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性采用氮蓝四唑光化还原法测定, 过氧化物酶(peroxidase, POD)活性采用愈创木酚法测定, 过氧化氢酶(catalase, CAT)活性采用分光光度法测定(苍晶和赵会杰2013); 抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)和谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)活性采用Shan等(2014)的方法测定。

3.4 其他生理指标的测定

叶绿素含量采用浸提法测定, 根系活力采用氯化三苯基四氮唑法测定, 游离脯氨酸含量采用磺基水杨酸法测定, 可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝法测定(苍晶和赵会杰2013); 丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量采用硫代巴比妥酸法测定, 还原型抗坏血酸(ascorbate, AsA)和还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)含量采用分光光度法测定(周旋2014)。

4 数据分析

采用Excel和SAS8.1进行数据的统计分析, 应用Duncan's新复极差法进行多重比较。

实验结果

1 外源H₂S对盐胁迫下茶树比叶重、根系活力及叶绿素、可溶性蛋白和脯氨酸含量的影响

由表1可知, 单独用NaHS处理对茶树的比叶重并无显著影响。与对照相比, 单独盐胁迫下茶树比叶重、叶绿素含量和根系活力分别显著降低20.43%、25.21%和22.33%。不同浓度(0、0.05、0.1、0.5 mmol·L⁻¹)的NaHS喷施处理后, 茶树比叶重比单独盐胁迫分别提高16.46%、32.55%和17.18%, 其中0.1 mmol·L⁻¹ NaHS处理下增幅显著; 叶绿素含量比单独盐胁迫分别提高6.12%、18.35%和14.80%; 根系活力比单独盐胁迫分别提高12.49%、36.80%和13.36%。

另外, 与对照相比, 盐胁迫使茶树叶片脯氨酸的含量增加29.18%, 不同浓度NaHS处理进一步促进盐胁迫下脯氨酸的积累, 分别比单独盐胁迫显著增加15.77%、16.55%和6.23%。盐胁迫还使叶片中可溶性蛋白的含量降低7.31%, 而不同浓度NaHS处理则扭转了这一趋势, 使其增加8.95%、12.49%和10.38%。以上结果表明, 盐胁迫导致茶树根系活力降低, 减少了茶树叶片光合产物的累积和可溶性蛋白的含量, 一定浓度范围内NaHS喷

表1 外源H₂S对盐胁迫下茶树比叶重、根系活力及叶绿素、脯氨酸和可溶性蛋白含量的影响Table 1 Effects of exogenous H₂S on leaf mass per area, root activity, and chlorophyll, proline and soluble proteins contents of tea plant under salt stress

处理	NaHS浓度/ mmol·L ⁻¹	比叶重/ mg·cm ⁻²	叶绿素含量/ mg·g ⁻¹ (FW)	根系活力/ μg·g ⁻¹ (FW)·h ⁻¹	脯氨酸含量/ μg·g ⁻¹ (FW)	可溶性蛋白含量/ mg·g ⁻¹ (FW)
对照	0	6.95 ^{ab}	1.52 ^b	633.95 ^b	184.65 ^e	80.99 ^b
	0.05	7.62 ^a	1.53 ^b	680.33 ^a	207.84 ^d	80.80 ^b
	0.1	7.85 ^a	1.56 ^a	680.46 ^a	231.71 ^c	82.13 ^{ab}
	0.5	7.35 ^{ab}	1.51 ^b	637.72 ^{ab}	183.22 ^e	80.97 ^b
盐胁迫	0	5.53 ^c	1.13 ^f	492.42 ^d	238.53 ^c	75.07 ^c
	0.05	6.44 ^{bc}	1.20 ^e	553.91 ^c	276.15 ^{ab}	81.80 ^{ab}
	0.1	7.33 ^{ab}	1.34 ^c	673.65 ^{ab}	278.00 ^{ab}	84.45 ^a
	0.5	6.48 ^{bc}	1.30 ^d	558.22 ^c	253.38 ^b	82.86 ^{ab}

同列数据后不同小写字母表示不同处理间差异显著($P<0.05$), 表2同。

施处理均在不同程度上使这些指标升高, 并进一步促进脯氨酸的积累, 其中0.1 mmol·L⁻¹ NaHS喷施处理效果最好。

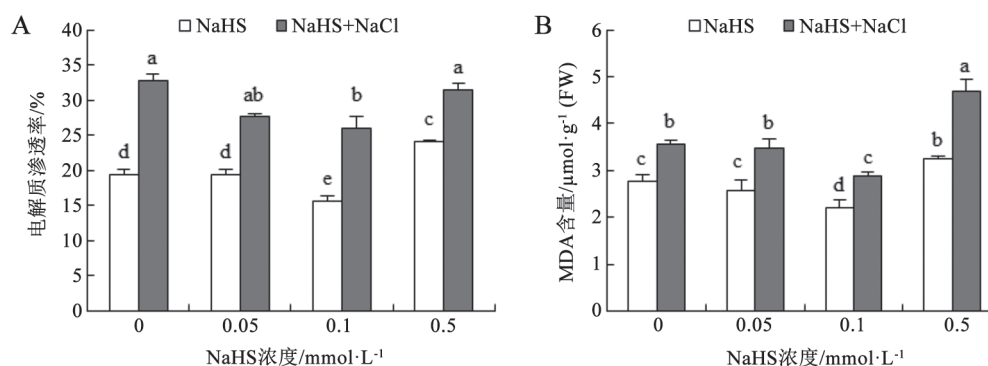
2 外源H₂S对盐胁迫下茶树叶片电解质渗透率和MDA含量的影响

MDA和电解质渗透率均能反映逆境胁迫下植物细胞膜的损伤程度。植物细胞膜受伤愈重, 外渗愈多, 电导率增加也愈大; MDA是膜脂过氧化的产物之一, 其含量增多会加剧膜的损伤, 是反应膜系统受损程度和植物抗逆性的重要指标。由图1可知, 盐胁迫显著增加了叶片电解质渗透率(68.12%) (图1-A)和MDA含量(28.25%) (图1-B), 而0.1 mmol·L⁻¹ NaHS喷施处理分别使茶树电解质渗透率和MDA含量显著降低了20.56%和18.45%。说明H₂S在一定浓度范围内能够缓解盐胁迫对细胞膜

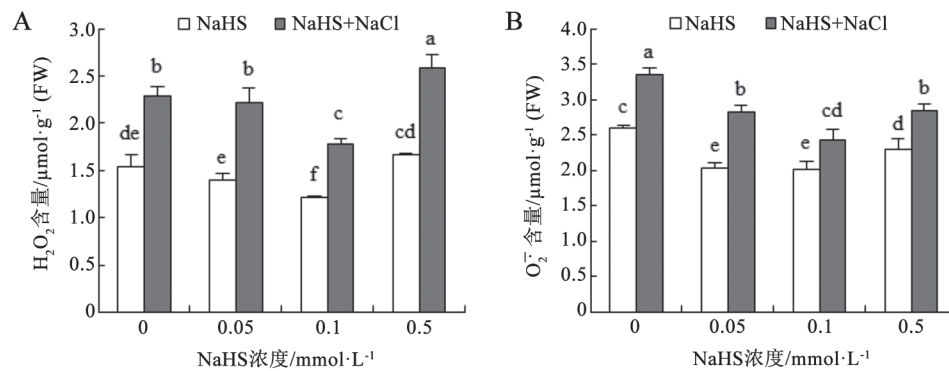
的伤害, 减轻膜脂过氧化的程度, 而较高浓度的H₂S对植物响应逆境胁迫并没有促进作用, 反而部分加重了胁迫伤害。

3 外源H₂S对盐胁迫下茶树叶片ROS含量的影响

由图2可知, 与对照相比, 盐胁迫分别使茶树叶片中H₂O₂和O₂⁻含量显著性增加48.56% (图2-A)和29.42% (图2-B), 而一定浓度范围内的NaHS处理则不同程度上减少了ROS的积累, 其中0.1 mmol·L⁻¹ NaHS处理使H₂O₂和O₂⁻含量显著降低22.59%和27.63%。0.05和0.5 mmol·L⁻¹ NaHS处理也使O₂⁻含量显著减少15.60%和15.17%, 但0.5 mmol·L⁻¹ NaHS处理并没有减少叶片中H₂O₂的含量, 反而进一步增加了H₂O₂的积累, 说明低浓度的H₂S处理确实能缓解盐胁迫引起的氧化损伤, 而高浓度H₂S处理效果不显著, 甚至部分加剧了ROS伤害。

图1 外源H₂S对盐胁迫下茶树叶片电解质渗透率(A)和MDA含量(B)的影响Fig. 1 Effects of exogenous H₂S on electrolyte leakage (A) and MDA content (B) in tea plant leaves under salt stress

不同小写字母表示不同处理间差异显著($P<0.05$), 图2和3同。

图2 外源H₂S对盐胁迫下茶树叶片H₂O₂ (A)和O₂⁻ (B)含量的影响Fig.2 Effects of exogenous H₂S on H₂O₂ (A) and O₂⁻ (B) contents in tea plant leaves under salt stress

4 外源H₂S对盐胁迫下茶树叶片抗氧化酶活性的影响

为了进一步确定H₂S的保护性作用,本试验测定了参与ROS代谢的5种抗氧化酶活性。由表2可知,盐胁迫引起SOD、APX和GR活性显著升高62.40%、30.32%和39.90%,使POD和CAT活性显

著降低53.85%和62.59%。与单独盐胁迫相比,不同浓度的NaHS处理均不同程度上增加了这些酶的活性,其中,0.1 mmol·L⁻¹ NaHS处理对酶的促进作用较其他浓度更明显。说明一定浓度范围内NaHS处理确实能够通过促进抗氧化酶的活性来增强盐胁迫下细胞对ROS的清除能力。

表2 外源H₂S对盐胁迫下茶树叶片抗氧化酶活性的影响Table 2 Effects of exogenous H₂S on the activities of antioxidant enzymes in tea plant leaves under salt stress

处理	NaHS浓度/ mmol·L ⁻¹	SOD活性/ U·g ⁻¹ (FW)	POD活性/ U·min ⁻¹ ·g ⁻¹ (FW)	CAT活性/ U·min ⁻¹ ·g ⁻¹ (FW)	APX活性/ U·min ⁻¹ ·g ⁻¹ (FW)	GR活性/ U·min ⁻¹ ·g ⁻¹ (FW)
对照	0	222.02 ^e	216.67 ^c	24.50 ^c	11.84 ^c	0.24 ^d
	0.05	227.52 ^e	250.00 ^{ab}	29.67 ^a	13.80 ^b	0.38 ^c
	0.1	258.26 ^f	266.67 ^a	27.67 ^b	14.14 ^b	0.39 ^{bc}
	0.5	247.71 ^f	223.33 ^{bc}	25.00 ^c	14.82 ^b	0.34 ^c
盐胁迫	0	360.55 ^c	100.00 ^f	9.17 ^f	15.43 ^b	0.33 ^c
	0.05	388.27 ^b	158.33 ^{de}	9.17 ^f	18.75 ^a	0.48 ^{ab}
	0.1	407.34 ^a	175.00 ^d	15.93 ^d	19.98 ^a	0.51 ^a
	0.5	340.86 ^d	136.67 ^e	12.67 ^e	19.61 ^a	0.38 ^c

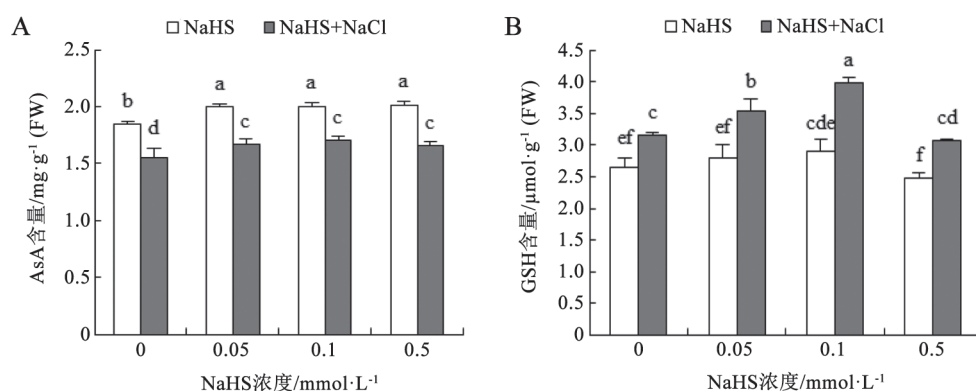
5 外源H₂S对盐胁迫下茶树叶片AsA和GSH含量的影响

AsA和GSH是两个非常重要的水溶性非酶抗氧化剂,能够协助抗氧化酶参与H₂O₂代谢,从而清除ROS。由图3可知,与对照相比,盐胁迫引起AsA含量显著降低16.36% (图3-A), GSH含量显著增加18.86% (图3-B)。而不同浓度的NaHS处理均显著增加AsA含量,并进一步增加了GSH含量。与单独盐胁迫相比,0.1 mmol·L⁻¹ NaHS处理分别使AsA和GSH含量显著性增加9.86%和26.43%。说明H₂S处理能够通过增加抗氧化剂的含量来维持细胞的氧化

还原平衡,进而减轻盐胁迫下ROS积累引起的细胞毒害。

讨 论

盐胁迫会对植物造成各种伤害,如离子毒害、渗透胁迫、氧化胁迫,从而破坏细胞膜的结构,影响植物正常的生理代谢,阻碍植物的生长发育(Sergey和Tracey 2012)。有研究表明,盐胁迫下ROS的过量积累及其对细胞膜的伤害是导致细胞损伤的主要原因之一。ROS (如H₂O₂和O₂⁻)是植物有氧代谢的副产物,低浓度时作为信号分子,能够

图3 外源H₂S对盐胁迫下茶树叶片AsA (A)和GSH (B)含量的影响Fig.3 Effects of exogenous H₂S on AsA (A) and GSH (B) contents in the tea plant leaves under salt stress

调节植物对环境的适应能力, 而高浓度时则破坏植物体内的氧化还原平衡, 抑制植物正常的代谢生长。在正常生长条件下, 植物能通过自身的ROS清除机制来维持体内ROS的平衡。然而逆境胁迫下, 当ROS的产生超过植物自身的清除能力时, 植物细胞中就会积累大量ROS, 而过量的ROS积累可引起脂质过氧化和蛋白质变性, 从而影响酶的活性及植物正常的生理代谢功能, 甚至诱导细胞程序化死亡(薛鑫等2013)。逆境胁迫下, 植物可以通过增强抗氧化防御系统来缓解盐胁迫引起的氧化损伤, 抗氧化能力越强, 植物抗逆性也就越强。传统上将植物自身的抗氧化系统分为两个部分, 即抗氧化酶防御系统(主要有SOD、POD、CAT、APX、GR)和非酶抗氧化剂防御系统(如AsA和GSH)。抗氧化酶分布在植物细胞的各个部位, 协同作用来清除ROS。其中APX和GR是AsA-GSH循环中的关键酶, 它们能和AsA、GSH以及循环中的其他酶一起通过一系列反应清除H₂O₂并重新生成AsA和GSH (Hasanuzzaman等2012; 薛鑫等2013)。本研究发现, 盐胁迫下ROS过量积累, 导致AsA含量减少, GSH含量增加, 以及抗氧化酶活性发生变化, 说明盐胁迫下茶树体内的氧化还原平衡被破坏; 而H₂S处理增强了盐胁迫下SOD、APX和GR活性, 提高了POD和CAT活性, 使AsA和GSH含量增加, 从而增强了植物抗氧化系统的防御能力, 维持了细胞内氧化还原平衡的稳定, 进而在一定程度上缓解盐胁迫引起的氧化损伤。Mostofa等(2015)和Shan等(2014)的研究也发现, H₂S通过调节AsA-GSH循环中其他酶的活性, 与SOD和CAT协同作用

来减轻ROS伤害, 增强植物的抗逆能力。POD和CAT也可以清除细胞内的H₂O₂, 因而可以推测盐胁迫下POD和CAT活性的降低(表2), 可能是与AsA-GSH循环协同作用清除H₂O₂的结果。本研究结果说明, 盐胁迫对茶树造成了氧化胁迫, 导致膜脂质过氧化, 严重影响了细胞膜的结构和功能; 而H₂S通过增强茶树抗氧化酶的活性和抗氧化物含量, 来清除盐胁迫诱导产生的ROS, 从而减轻膜脂质过氧化程度, 维持细胞膜的稳定性, 缓解盐胁迫诱导的氧化损伤。

叶片是植物光合作用的主要器官, 叶绿素作为光合作用中能量转化的物质基础, 可以将吸收的光能转化为化学能, 其含量是衡量叶片衰老和光合功能的一个重要参数。而比叶重是指单位面积叶片的干重, 反映了植物在不同生长期叶片有机物积累和存储规律(刘西军等2013)。本试验中, 盐胁迫显著降低茶树的比叶重和叶绿素含量, 而0.1 mmol·L⁻¹ NaHS喷施处理显著扭转了这一趋势, 说明外源H₂S可能通过参与茶树光合系统的调节, 促进叶绿素合成, 进而增加叶片干物质积累, 提高抗逆能力。Chen等(2011, 2015)的研究均表明H₂S在植物光合代谢中发挥着重要作用。另外, 本研究还发现, 外源H₂S处理增强了盐胁迫下茶树的根系活力。根系不仅是植物吸收水分和矿质营养的主要器官, 也是合成氨基酸、激素等物质的重要部分。盐胁迫下, 根系是最早感受逆境信号的部位, 根系活力的增强有利于促进盐胁迫下矿物质离子吸收, 维持细胞内的离子平衡, 减轻盐胁迫诱导的离子亏缺, 增强茶树的抗逆能力。本研究中,

H₂S还促进了盐胁迫下可溶性蛋白和脯氨酸的积累(表1)。可溶性蛋白和脯氨酸作为细胞内的渗透调节物质,其含量增加有助于增强植物的耐盐性(杨颖丽等2013)。另外,逆境下,脯氨酸在保护蛋白质、细胞膜及亚细胞结构方面也有重要作用(邱念伟等2013)。因此,可以推测H₂S不仅通过促进细胞内可溶性蛋白和脯氨酸的含量来响应盐胁迫,还可能通过促进脯氨酸含量的增加来维持细胞和蛋白质结构的稳定,从而缓解盐胁迫引起的细胞损伤和代谢失衡。

另外,有研究指出,低浓度的H₂S能够促进植物生长,高浓度的H₂S抑制植物生长,最佳处理浓度会因试验材料、处理方式、胁迫类型、胁迫时间等而有所差异(单长卷等2015;何庆元等2015;何庆元等2016)。本试验也发现,与对照相比,单独喷施0.1 mmol·L⁻¹ NaHS确实能明显增强茶树的抗氧化能力,减少细胞中ROS含量,降低膜脂质过氧化程度,增加茶树比叶重和根系活力;这种促进作用也呈现浓度依赖性,当NaHS处理浓度小于等于0.1 mmol·L⁻¹时促进作用随浓度的增加而增强,而在0.5 mmol·L⁻¹ NaHS浓度处理下则呈现减小的趋势,甚至进一步增加H₂O₂含量和细胞膜透性。

综上所述,盐胁迫导致茶树叶片ROS含量增加,打破了细胞内氧化还原反应的平衡,破坏细胞膜的完整性,影响茶树光合色素合成和根系活力,阻碍叶片干物质的积累。而NaHS作为气体信号分子H₂S的供体,0.1 mmol·L⁻¹ NaHS喷施处理能显著增强茶树叶片抗氧化酶活性和抗氧化物含量,提高叶绿素、脯氨酸和可溶性蛋白含量,从而增强茶树清除ROS的能力,维持细胞内氧化还原反应的平衡和细胞膜结构的稳定,促进茶树叶片干物质积累和根系活力,进而提高茶树对盐胁迫的适应能力。

参考文献

- Cang J, Zhao HJ (2013). Experimental Course of Plant Physiology. Beijing: Higher Education Press, 140–163 (in Chinese) [苍晶, 赵会杰(2013). 植物生理学实验教程. 北京: 高等教育出版社, 140–163]
- Chen J, Wang WH, Wu FH, You CY, Liu TW, Dong XJ, He JX, Zheng HL (2013). Hydrogen sulfide alleviates aluminum toxicity in barley plant. *Plant Soil*, 362: 301–318
- Chen J, Wu FH, Shang YT, Wang WH, Hu WJ, Simon M, Liu X, Shangguang ZP, Zheng HL (2015). Hydrogen sulfide improves adaptation of *Zea mays* plant to iron deficiency. *J Exp Bot*, 66 (21): 6605–6622
- Chen J, Wu FH, Wang WH, Zheng CJ, Lin GH, Dong XJ, He JX, Pei ZM, Zheng HL (2011). Hydrogen sulfide enhances photosynthesis through promoting chloroplast biogenesis, photosynthetic enzyme expression, and thiol redox modification in *Spinacia oleracea* seedlings. *J Exp Bot*, 62 (13): 4481–4493
- Duan BB, Lu W (2014). Hydrogen sulfide alleviates rice photoinhibition by promoting the activity of photosystem II in strong light stress. *Plant Physiol J*, 50 (7): 1019–1026 (in Chinese with English abstract) [段冰冰, 陆巍(2014). 强光下硫化氢通过促进光系统II的活性来缓解水稻的光抑制. 植物生理学报, 50 (7): 1019–1026]
- Duan BB, Ma YH, Jiang MR, Yang F, Ni L, Lu W (2015). Improvement of photosynthesis in rice (*Oryza sativa* L.) as a result of an increase in stomatal aperture and density by exogenous hydrogen sulfide treatment. *Plant Growth Regul*, 75: 33–44
- Guo HM, Xiao TY, Xie YJ (2016). The physiological function and molecular mechanism of signaling molecule hydrogen sulfide in plants. *Chin J Biochem Mol Biol*, 32 (5): 488–495 (in Chinese with English abstract) [郭鸿鸣, 肖天宇, 谢彦杰(2016). 气体信号分子硫化氢在植物中的生理功能及作用机制. 中国生物化学与分子生物学报, 32 (5): 488–495]
- Hasanuzzaman M, Hossain MA, da Silva JAT, Fujita M (2012). Plant response and tolerance to abiotic oxidative stress: antioxidant defense is a key factor. In: Venkateswarlu B, Shanker AK, Shanker C, Maheswari M (eds). *Crop Stress and its Management: Perspectives and Strategies*. Netherlands: Springer, 261–315
- He QY, Xiang SH, Li ZP, Wang SH, Zhu CE, Liu B, Wu P (2016). Methylation of soybean (*Glycine max*) under salt stress by H₂S treatment with MSAP. *Chin J Oil Crop Sci*, 38 (2): 195–201 (in Chinese with English abstract) [何庆元, 向仕华, 李正鹏, 王松华, 祝嫦巍, 刘斌, 吴萍(2016). 利用MSAP分析硫化氢对盐胁迫大豆甲基化的影响. 中国油料作物学报, 38 (2): 195–201]
- He QY, Xiang SH, Wu P, Li ZP, Wang SH, Zhu CW, Zhang XH (2015). Effects of hydrogen sulfide alleviates salt stress in soybean (*Glycine max*) antioxidative system. *Soybean Sci*, 34 (3): 427–431 (in Chinese with English abstract) [何庆元, 向仕华, 吴萍, 李正鹏, 王松华, 祝嫦巍, 张晓红(2015). 硫化氢对盐胁迫条件下大豆抗氧化酶活性的影响. 大豆科学, 34 (3): 427–431]
- Li JS, Jia HL, Wang J, Cao QH, Wen ZC (2014). Hydrogen sulfide is involved in maintaining ion homeostasis via regulating plasma membrane Na⁺/H⁺ antiporter system in the hydrogen peroxide-dependent manner in salt-stress *Arabidopsis thaliana* root. *Protoplasma*, 251: 899–912
- Li S, Jing JW, Yan JP, Chen XQ, Xu HN (2015). Research progress in the gasotransmitter hydrogen sulfide in plants. *Plant Physiol J*, 51 (5): 579–585 (in Chinese with English abstract) [李顺, 景举伟, 严金平, 陈宣钦, 徐慧妮(2015). 气体信号分子H₂S在植物中的研究进展. 植物生理学报, 51 (5): 579–585]
- Liu XJ, Chen J, Xu XN, Shu C (2013). Relationship of SPAD, chlorophyll and LMA in *Osmanthus fragrans* leaves. *J Anhui Agric Univ*, 40 (1): 51–54 (in Chinese with English abstract) [刘西军,

- 陈静, 徐小牛, 舒畅(2013). 桂花叶片SPAD、叶绿素含量和比叶重特征. 安徽农业大学学报, 40 (1): 51–54]
- Min X, Zhou ZH, Li ZG (2016). The metabolism of signal molecule hydrogen sulfide and its role in the acquisition of heat tolerance in plants. *Plant Physiol J*, 52 (1): 37–46 (in Chinese with English abstract) [闵雄, 周志豪, 李忠光(2016). 信号分子硫化氢的代谢及其在植物耐热性形成中的作用. 植物生理学报, 52 (1): 37–46]
- Mostofa MG, Saegusa D, Fujita M, Tran L-S (2015). Hydrogen sulfide regulates salt tolerance in rice by maintaining Na^+/K^+ balance, mineral homeostasis and oxidative metabolism under excessive salt stress. *Front Plant Sci*, 6: 1055
- Peng RY, Bian ZY, Zhou LN, Cheng W, Hai N, Yang CQ, Yang T, Wang XY, Wang CY (2016). Hydrogen sulfide enhances nitric oxide-induced tolerance of hypoxia in maize (*Zea mays* L.). *Plant Cell Rep*, 35: 2325–2340
- Qiu NW, Yang CC, Fu WC, Hu S, Zhou F (2013). Protective effect of exogenous proline on PSII particles under high salinity and high temperature stresses. *Plant Physiol J*, 49 (6): 586–590 (in Chinese with English abstract) [邱念伟, 杨翠翠, 付文诚, 胡胜, 周峰(2013). 高盐和高温胁迫下外源脯氨酸对PSII颗粒的保护作用. 植物生理学报, 49 (6): 586–590]
- Sergey S, Tracey AC (2012). *Plant Salt Tolerance*. New York: Humana Press
- Shan C, Liu H, Zhao L, Wang X (2014). Effects of exogenous hydrogen sulfide on the redox states of ascorbate and glutathione in maize leaves under salt stress. *Biol Plant*, 58 (1): 169–173
- Shan CJ, Zhou Y, Zhao YZ (2015). Effects of exogenous hydrogen sulfide on the antioxidant characteristics of maize seedling under drought. *Agric Res Arid Areas*, 33 (6): 161–166 (in Chinese with English abstract) [单长卷, 周岩, 赵元增(2015). 外源硫化氢对干旱条件下玉米幼树抗氧化特性的影响. 干旱地区农业研究, 33 (6): 161–166]
- Sun JH, Zhang RQ, Wang HY, Fan WT, Luo LT, Han JC, Ma ZH (2014). Spatial variation of soil salt content and pH of salinized soil in Dingbian County, Shaanxi Province. *Acta Agric Borealia-Occidentalis Sin*, 23 (9): 114–119 (in Chinese with English abstract) [孙剑虹, 张瑞庆, 王欢元, 范王涛, 罗林涛, 韩霁昌, 马增辉(2014). 陕西定边盐渍土壤含盐量和pH的空间分布特征. 西北农业学报, 23 (9): 114–119]
- Wang W, Shen YG, Shi JY, Zhu LQ, Zhang W, Wu SF, Du HY (2014). Effects of exogenous H_2S on preservation of peaches and active oxygen metabolism. *J Fruit Sci*, 31 (2): 302–307 (in Chinese with English abstract) [汪伟, 沈勇根, 石晶莹, 朱丽琴, 张伟, 吴少福, 杜华英(2014). 外源硫化氢对桃果实保鲜效果及活性氧代谢的影响. 果树学报, 31 (2): 302–307]
- Wu ZJ, Lu L, Li XH, Fang WP, Zhou L, Tan GF, Zhang J (2014). Isolation and expression profiles analysis of AP2/ERF-B3 group transcription factor from *Camellia sinensis*. *J Nanjing Agric Univ*, 37 (4): 67–75 (in Chinese with English abstract) [吴致君, 卢莉, 黎星辉, 房婉萍, 周琳, 谭国飞, 庄静(2014). 茶树AP2/ERF-B3类转录因子基因的克隆与表达特性分析. 南京农业大学学报, 37 (4): 67–75]
- Xue X, Zhang Q, Wu JX (2013). Research of reactive oxygen species in plants and its application on stress tolerance. *Biotechnol Bull*, 10: 6–11 (in Chinese with English abstract) [薛鑫, 张芊, 吴金霞(2013). 植物体内活性氧的研究及其在植物抗逆方面的应用. 生物技术通报, 10: 6–11]
- Yang YL, Zhang J, Yang F, Li XN, Ma HZ (2013). Effects of salt stress on osmolyte and proline metabolism in two wheat plant. *J Northwest Normal Univ (Nat Sci)*, 49 (1): 72–77 (in Chinese with English abstract) [杨颖丽, 张菁, 杨帆, 李小宁, 马海珍(2013). 盐胁迫对两种小麦渗透性调节物及脯氨酸代谢的影响. 西北师范大学学报(自然科学版), 49 (1): 72–77]
- Zhang H (2016). Hydrogen sulfide in plant biology. In: Lamattina L, García-Mata C (eds). *Gasotransmitters in Plants, Signaling and Communication in Plants*. Switzerland: Springer International Publishing, 23–51
- Zhang H, Hu LY, Hu KD, He YD, Wang SH, Luo JP (2008). Hydrogen sulfide promotes wheat seed germination and alleviates oxidative damage against copper stress. *J Integr Plant Biol*, 50 (12): 1518–1529
- Zhang H, Hu SL, Zhang ZJ, Hu LY, Jiang CX, Wei ZJ, Liu J, Wang HL, Jiang ST (2011). Hydrogen sulfide acts as a regulator of flower senescence in plants. *Postharvest Biol Technol*, 60: 251–257
- Zhang H, Tang J, Liu XP, Wang Y, Yu W, Peng WY, Fang F, Ma DF, Wei ZJ, Hu LY (2009). Hydrogen sulfide promotes root organogenesis in *Ipomoea batatas*, *Salix matsudana* and *Glycine max*. *J Integr Plant Biol*, 51 (12): 1086–1094
- Zhou CF, Wu GX, Li T, Bi HG, Li QM, Ai XZ (2016). Effect of exogenous hydrogen sulfide on photosynthesis and antioxidant system of cucumber leaves under low temperature in solar-greenhouse. *Acta Hortic Sin*, 43 (3): 462–472 (in Chinese with English abstract) [周超凡, 吴帼秀, 李婷, 毕焕改, 李清明, 艾希珍(2016). 外源 H_2S 对低温下日光温室黄瓜光合作用及抗氧化系统的影响. 园艺学报, 43 (3): 462–472]
- Zhou X (2014). The physiological response of tea to exogenous salicylic acid under salt stress [dissertation]. Yangling: Northwest A&F University, 15–19 (in Chinese with English abstract) [周旋(2014). 盐胁迫下茶树对外源水杨酸的生理响应[学位论文]. 杨凌: 西北农林科技大学, 15–19]
- Zhou X, Shen L, Jin Y, Mao SS, Chen LC, Xiao B, Xiao X (2015). Effects of exogenous salicylic acid on growth and physiological characteristics of tea plant (*Camellia sinensis*) under salt stress. *J Northwest A&F Univ (Nat Sci)*, 43 (7): 161–167 (in Chinese with English abstract) [周旋, 申璐, 金媛, 毛双双, 陈良超, 肖斌, 肖霄(2015). 外源水杨酸对盐胁迫下茶树生长及主要生理特性的影响. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 43 (7): 161–167]

Effects of exogenous hydrogen sulfide on the antioxidant characteristics of tea plant (*Camellia sinensis*) under salt stress

HUANG Han, GUO Sha-Sha, CHEN Liang-Chao, XIAO Bin*

College of Horticulture, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China

Abstract: To evaluate the effects of exogenous hydrogen sulfide (H_2S) on the antioxidant characteristics of tea plant (*Camellia sinensis*) under salt stress, leaf mass per area (LMA), root activity, the activities of antioxidant enzymes, the level of antioxidants, reactive oxygen species (ROS) and lipid peroxidation of tea plant cv. 'Pingyangtezao' were determined by treatments with different concentrations of NaHS (0, 0.05, 0.1 and 0.5 $mmol \cdot L^{-1}$), which is a donor of H_2S . The results showed that LMA, root activity and chlorophyll content were significantly declined, while electrolyte leakage and the accumulation of hydrogen peroxide (H_2O_2), superoxide (O_2^-) and malondialdehyde (MDA) were increased under the 100 $mmol \cdot L^{-1}$ NaCl treatment. Under salt stress, the activities of antioxidant enzymes, including superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD), ascorbate peroxidase (APX) and glutathione reductase (GR), the content of non-enzymatic compounds such as ascorbate (AsA) and glutathione (GSH), the accumulation of free proline (Pro) and soluble protein in the leaves were significantly enhanced, but electrolyte leakage and H_2O_2 , O_2^- and MDA contents were significantly decreased by treatment with 0.1 $mmol \cdot L^{-1}$ NaHS. In summary, exogenous H_2S could improve the antioxidant capacity, reduce the accumulation of active oxygen, maintain membrane stability and redox homeostasis of tea plant under salt stress, thus reducing NaCl-induced oxidative stress and enhancing the adaptability of tea plant to salt stress. The optimum treatment concentration of NaHS was 0.1 $mmol \cdot L^{-1}$.

Key words: tea plant; hydrogen sulfide; salt stress; antioxidant capacity

Received 2016-12-08 Accepted 2017-03-06

This work was supported by the Shaanxi Province Tea Industry Technology System (Grant No. K333021531) and the Key Bidding Project of Shaanxi Province Overall Planning Science and Technology (Grant No. 2013KTZB-02-01).

*Corresponding author (E-mail: xiaobin2093@sohu.com).