铝对氟在茶树体内吸收与分配的影响

张显晨[1]，郜红建[2]，张正竹[1,*]，宛晓春[1]
(1.安徽农业大学茶与食品科技学院，安徽 合肥 230036；2.安徽农业大学资源与环境学院，安徽 合肥 230036)

摘 要：为了探讨铝(Al^{3+})对茶树吸收氟(F)的累积特性，研究溶液培养条件下，不同浓度Al^{3+}及$c(Al^{3+}):c(F^-)$比例对茶树吸收富集F的影响。结果表明：低浓度Al^{3+} (1.05～5.26mmol/L，$c(Al^{3+}):c(F^-)$=1:10～1:2)促进了F在茶树根部的富集，主要以F离子态形式被茶树吸收；而高浓度Al^{3+} (10.52～31.57mmol/L，$c(Al^{3+}):c(F^-)$=1:1～3:1)抑制了F在茶树根部的富集，主要以Al/F络合态形式被茶树吸收。不同浓度Al^{3+}促进了F在茶树叶部的富集。培养液中$c(Al^{3+}):c(F^-)\geq1$时($c(Al^{3+})\geq10.52$mmol/L)，抑制了茶树根部对F的吸收富集，而$c(Al^{3+}):c(F^-)<1$时($c(Al^{3+})\leq5.26$mmol/L)，促进了茶树根部对F的吸收富集。Al^{3+}促进了茶树体内F向地上部分转移，尤以$c(Al^{3+}):c(F^-)$为1:1、1:3、1:5时，F从茶树根部向地上部分转移系数最高。

关键词：Al^{3+}浓度；F形态；茶树；吸收；分配

Influence of Aluminum on Absorption and Distribution of Fluoride in Tea Plants (*Camellia sinesis* L.)

ZHANG Xian-chen[1]，GAO Hong-jian[2]，ZHANG Zheng-zhu[1,*]，WAN Xiao-chun[1]
(1. College of Tea & Food Science and Technology, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China;
2. College of Resources and Environment, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

Abstract: The effects of different Al^{3+} concentrations and different $c(Al^{3+}):c(F^-)$ concentration ratios on accumulation characteristics of fluoride in tea plants (*Camellia sinesis* L.) under liquid culture conditions were examined. Low Al^{3+} concentrations (1.05－5.26 mmol/L; $c(Al^{3+}):c(F^-)$ = 1:10－1:2) could promote fluoride accumulation in tea plant roots and fluoride was absorbed primarily in an ionic form. On the contrary, fluoride accumulation in tea plant roots was inhibited under high Al^{3+} concentrations (10.52－31.57 mmol/L; $c(Al^{3+}):c(F^-)$ = 1:1－3:1) and fluoride was absorbed primarily in the form of $c(Al^{3+}):c(F^-)$complex. Different Al^{3+} concentrations had a promoting effect on fluoride accumulation in tea leaves. Fluoride accumulation in tea plant roots was inhibited at $c(Al^{3+}):c(F^-)$ ratios equal to or greater than 1 and Al^{3+} concentrations equal to or greater than 10.52 mmol/L, but promoted at $c(Al^{3+}):c(F^-)$ ratios smaller than 1 and Al^{3+} concentrations equal to or smaller than 5.26 mmol/L. Al^{3+} could promote fluoride translocation from roots to leaves in tea plants and the maximum translocation factor was observed at $c(Al^{3+}):c(F^-)$ ratios of 1:1, 1:3 and 1:5.

Key words: Al^{3+} concentration; fluoride forms; tea plant; absorption; distribution
中图分类号：S571.1 文献标志码：A 文章编号：1002-6630(2013)05-0147-04

F是人体必需微量元素，适量的F能维持机体正常的钙磷代谢，增强骨骼的强度[1]，过量摄入则可引起F中毒，主要表现为氟斑牙(斑釉齿)和氟骨症[2]。茶树是F高积累植物，体内F含量是一般植物的20～30倍，主要累积于叶片中[3]。成品茶叶中F含量从几十到几千mg/kg不等，其中以用老叶和茶梗为原料加工而成的砖茶氟含量最高，甚至超过1000mg/kg。存在于茶叶中的F有40%～90%可溶解在茶汤中，饮茶成为人体摄入F的主要途径之一[4]。在没有大气污染的条件下，茶树体内的F主要来源于根系从土壤中吸收，而吸收的多寡则与土壤F形态密切相关[5]。土壤溶液中F^-可与Al^{3+}形成Al/F(AlF_2^+、$A1F^{2+}$、AlF_3、AlF_4^-、AlF_5^{2-}、AlF_6^{3-})络合物，从而影响茶树对F的吸收[6]。阮建云等[7]证实，增加供Al促进茶树对F的吸收，从而促进叶片对F的累积。向勤裎等[8]的研究表明：Al和F在茶树叶中的富集动态一致。廖万有[9]的研究证实，Al^{3+}从茶树吸收开始，直到富集于叶表皮处，主要以复合状态存在，这与F元素有某些相似。但有关不同Al^{3+}/F^-比例对茶树吸收F的研究较少。

收稿日期：2011-11-03
基金项目：国家自然科学基金面上项目(31272254)；教育部科学技术研究重点项目(210097)
作者简介：张显晨(1985—)，男，博士研究生，研究方向为茶叶生物化学与质量安全。E-mail：zhangxianchen180@163.com
*通信作者：张正竹(1969—)，男，教授，博士，研究方向为茶叶生物化学与茶叶加工。E-mail：zzz@ahau.edu.cn

本实验采用水培实验的方法，研究不同浓度Al^{3+}及Al^{3+}与F^-浓度比对F在茶树体内富集和分配的影响，研究结果为揭示茶树吸收累积F的特性及生理调控机制提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

氯化钠、柠檬酸三钠、冰醋酸、硝酸氨、磷酸二氢钾、氯化钾等均为分析纯 天津市天福达实业公司。

奥立龙氟离子测量仪(配有9609BNWP氟电极) 美国热电公司；电热恒温水浴锅 上海精宏实验设备有限公司；PHS-3C精密pH计 上海精密科学仪器有限公司雷磁仪器厂。

1.2 方法

1.2.1 茶苗培养方法

精选颗粒饱满的茶籽在自来水中浸泡2d后，选取健康茶籽定植于洗净的石英砂中(直径0.3cm)，待种子发芽后，转移至人工气候室内培养。光照时间12h/d，室温(22±1)℃，光照强度约1500lx，空气湿度45%～50%。选长势一致的茶苗，用去离子水冲净根部，转移到盛有改进的茶树水培标准营养液的塑料盆(50cm×30cm)中培养，改进的茶树水培标准营养液配方为：硝酸铵0.114g/L、磷酸二氢钾0.0136g/L、氯化钾0.03869g/L，pH值调节至5.00～5.50之间[10]，定时供气。待茶苗根部长出大量白色吸收根后，再继续水培1周进行实验处理。

1.2.2 茶苗吸收富集实验方法

选取生长势一致的茶苗，洗净根表营养液和附着物，用滤纸沾干表明水分后定植于250mL三角烧瓶，每瓶3株。三角瓶中盛有F离子质量浓度为200mg/L的改进的茶树水培标准营养液(1.2.1节)250mL，同时加入一定量的Al^{3+}，使营养液中$c(Al^{3+}):c(F^-)$比分别为3:1、2:1、1:1、1:2、1:3、1:5和1:10。以不含Al^{3+}的实验处理为对照。瓶口用脱脂棉封口，瓶体用黑色胶带裹住，以利于根系生长。茶苗在含有Al^{3+}与F^-不同浓度比的营养液中培养2d[6]，每个处理设置3次重复(其浓度设置不会出现氟胁迫症状[6])。

1.2.3 茶苗体内F的提取和测定方法

培养结束后，用自来水和蒸馏水冲洗干净根部和叶片样品，然后置于80℃烘箱中烘干。茶苗根和叶中F含量参照张显晨等[4]的方法提取。分别称取茶树根部和叶片样品置于50mL离心管中，加30mL超纯水，在100℃沸水浴中静置提取30min。提取液中F^-含量按照郜红建等[11]的方法测定，准确取15mL提取液置于50mL聚四氟乙烯烧杯中，加入15mL pH5.0的离子调节缓冲液Ⅰ。离子调节缓冲液Ⅰ由58g NaCl、68g二水合柠檬酸钠和57mL冰乙酸溶于700mL纯水，用5mol/L氢氧化钠调节pH值，用纯水定容至1000mL配制而成。待提取液与离子调节缓冲液混合后，充分搅拌，在奥立龙台式F离子测量仪(配置9609BNWP氟离子选择电极)上测定F^-浓度。

1.3 离子态F和总F的测定

调节缓冲液Ⅰ按照1.2.3节中的方法配制。调节缓冲液Ⅱ由58g NaCl和57mL冰乙酸溶于700mL纯水，用5mol/L氢氧化钠调节pH值，用纯水定容至1000mL配制而成。

茶苗吸收总F和离子态F的测定：准确取15mL培养液置于50mL聚四氟乙烯烧杯中，分别加入15mL离子调节缓冲液Ⅰ、Ⅱ，充分搅拌混匀后，在奥立龙台式F离子测量仪(包括9609BNWP氟离子选择电极)上测定总F和F^-浓度。

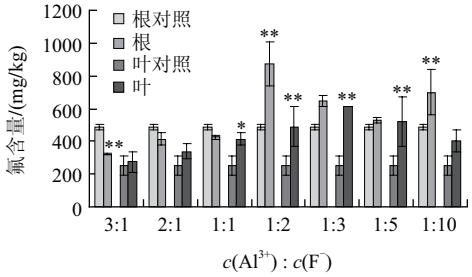
茶树F吸收量为茶树根部和茎叶吸收氟的总量(μg)；营养液氟离子减少量为茶苗培养前后营养液中氟离子变化量(μg)；营养液总氟减少量为茶苗培养前后营养液中总氟变化量(μg)；茶树F吸收量占培养液总F减少量的比例为茶苗植株吸收氟的总量与培养前后营养液中总氟变化量的比值；营养液氟离子减少量占总氟减少量的比例为茶苗培养前后营养液中氟离子变化量与总氟变化量的比值。

1.4 数据处理

茶苗根部和叶片样品中F含量为3次重复分析的$\bar{x}\pm s$，实验数据用Excel 2003和DPSS进行统计分析。茶苗根部和叶片中F含量采用DPSS统计软件中单因素方差分析(ANOVA)，组间差异用Tukey法进行多重性比较，显著性检验水平分别为0.05和0.01。

2 结果与分析

2.1 Al^{3+}对F在茶树体内富集的影响



*.$P<0.05$，差异显著；**.$P<0.01$，差异极显著。

图1 Al对F在茶树根部和叶部富集的影响

Fig.1 Effect of $c(Al^{3+}):c(F^-)$ concentration ratio on fluoride accumulation in tea plant roots and leaves

不同Al^{3+}与F^-浓度比对茶树根部和叶片吸收富集F的规律不同。当$c(Al^{3+}):c(F^-)\geq1$时，Al^{3+}抑制茶树根对F的吸收，$c(Al^{3+}):c(F^-)$为3:1、2:1、1:1时，抑制率分别为33.93%、14.53%和12.51%，尤以3:1的$c(Al^{3+}):c(F^-)$抑制率最高。但当$c(Al^{3+}):c(F^-)<1$时，Al^{3+}促进茶树根

部对F的吸收，$c(Al^{3+}):c(F^-)$为1:2、1:3、1:5、1:10时，茶树根部F的吸收量分别比对照高80.02%、33.38%、9.06%和44.45%。当$c(Al^{3+}):c(F^-)$为1:2和1:10时，茶树根部F的吸收量与对照相比达到1%的极显著差异水平。

由图1可知，与不含Al^{3+}的对照相比，加入不同浓度Al^{3+}对茶树根部吸收F表现出较大差异。低浓度时，Al促进茶树根部对F吸收富集，如Al^{3+}浓度为1.05mmol/L时($c(Al^{3+}):c(F^-)$=1:10)，茶树根部F的含量为(700.5±139.5)mg/kg，比对照高44.45%。这可能是因为：在低浓度时，随着Al^{3+}浓度的增加，茶树对F的吸收主要由离子态转变为Al/F络合态，茶苗根部对F的吸收与植株对F的富集，均呈增长趋势。罗亮等[12]的研究证实，茶树生长在低Al^{3+}的酸性土壤溶液中，Al^{3+}含量随着pH值的降低而增加，Al^{3+}与土壤溶液中的F^-进行络合，形成稳定性高且易溶于水的不同形态铝氟络合物AlF_n^{3-n}，促进了茶树对F的吸收，减少F对茶树的毒害作用[13-14]。阮建云等[7]研究表明：Al^{3+}浓度在0～0.2mmol/L时，无论土壤或溶液培养条件下，增加供铝都促进茶树对氟的吸收，这与本研究结果一致。

在高浓度时，Al^{3+}抑制了茶树根部对F的吸收，茶树根部对F的吸收明显减少，其F含量在320.4～424.26mg/kg，比对照减少12.51%～33.93%。这可能是因为低浓度的Al^{3+}能够促进根系的生长，高浓度Al^{3+}抑制了茶树根系生长[15]，从而影响茶树根系对F的吸收。伍炳华等[16]证实，Al^{3+}浓度为1mmol/L时茶树根尖细胞分裂指数提高，当Al^{3+}浓度高于2mmol/L时，抑制了根细胞分裂和生长，造成Al^{3+}对茶树根系的毒害，抑制了根对F^-的吸收。

加入不同浓度Al^{3+}促进了F在茶树叶片的富集，不同$c(Al^{3+}):c(F^-)$对F在茶树叶片的累积效应表现较大差异。在200mg/L的F^-溶液中，加入一定量的Al^{3+}，使溶液中$c(Al^{3+}):c(F^-)$为1:2、2:1和3:1时，茶树叶片F的富集量分别比对照增加93.7%、33.63%和9.36%，其中以$c(Al^{3+}):c(F^-)$为1:3时，F在茶树叶片的累积量增加最多。这可能是因为$c(Al^{3+}):c(F^-)$为1:3时，茶树根系吸收F的数量增加了33.38%，增加了F从根系到叶片的转移。马立峰[17]也证实，在$c(Al^{3+}):c(F^-)$为2:1溶液中，茶树叶片中的F的含量比对照增加了37%。这与阮建云等[7]的结果一致，表明Al^{3+}能促进茶树对F的吸收和转移，提高了F在茶树叶片累积量。

根据Al/F配位-解离平衡及其解离常数可知，不同$c(Al^{3+}):c(F^-)$比可以形成不同配比的Al/F络合物[15]。当$c(Al^{3+}):c(F^-)\geq$1:3时，培养液中的F主要以带正电荷的Al/F络合物形态存在为主，随着$c(Al^{3+}):c(F^-)$减小，Al/F络合物所带正电荷数的减少，茶苗吸收F^-占吸收总F的比例从5.82%增加到47.91%(表1)。当$c(Al^{3+}):c(F^-)<$1:3时，培养液中的F主要以带有负电荷的Al/F络合物形态为主，此时培养液中含有大量F，吸收F^-的数量占吸收总量的90%以上(表1)。Ding[13]、小西茂毅[14]等提出茶树体内F与Al可以形成Al/F络合物(AlF_n^{3-n})是F进入植物体并发生运转的主要形态。Takmaz-Nisancioglu等[18]研究也证实，$c(Al^{3+}):c(F^-)$为1:3时，有44%的F以Al/F络合物存在于番茄木质部中。这与本实验得出的$c(Al^{3+}):c(F^-)$为1:3时有52.1%的F以络合物形式被茶树吸收的结果相吻合。

表1 F在茶苗体内的富集规律($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 1 Accumulation pattern of fluoride in tea plants($\bar{x}\pm s, n=3$)

$c(Al^{3+}):c(F^-)$	茶树F吸收量/μg	营养液F^-减少量/μg	营养液总F减少量/μg	茶树F吸收量/营养液F减少量/%	营养液F^-减少量/总F减少量/%
3:1	66.67±4.68	4.26±0.22	73.10±9.36	91.20	5.83
2:1	100.0±15.59	23.33±3.86	102.60±8.48	97.47	22.74
1:1	182.5±9.37	42.50±3.77	203.20±24.34	89.81	20.92
1:2	225.0±18.33	65.00±6.24	232.75±20.56	96.67	27.93
1:3	350.0±41.94	143.75±11.12	300.10±30.81	116.63	47.90
1:5	150.0±13.11	150.00±11.14	165.70±21.83	90.53	90.53
1:10	280.0±27.07	250.00±24.27	276.60±25.06	101.23	90.38

2.2 培养液中F的减少量与茶树富集量的关系

加入不同浓度的Al^{3+}，F在茶苗体内的吸收量随培养液中$c(Al^{3+}):c(F^-)$比例不同而发生变化，其变化范围在66.67～350.0μg之间(表1)。当$c(Al^{3+}):c(F^-)$从3:1逐渐减少为1:2时，茶树体内F的吸收量呈增加趋势，而$c(Al^{3+}):c(F^-)$为1:3和1:5时，茶树体内F的吸收量却呈降低趋势，这与培养液中F的减少量的规律一致。茶树F吸收量占培养液总F减少量的比例在90.53%～116.63%之间，且符合方程$y=0.8357x+31.774$($R^2=0.9616$)，其中x表示茶树F的吸收量(μg)；y表示营养液中总F的减少量(μg)，表明茶树体内F的吸收主要来源于茶树根系从培养液中的吸收。高绪评等[19]也证实，根系是茶树吸收富集F主要器官，在没有大气氟污染的情况下，茶树体内F主要来源于根系从土壤中的吸收富集。

2.3 Al^{3+}对F在茶树体内转移分配的影响

表2 不同形态F在茶树体内的转移系数($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 2 Translocation factors of different forms of fluoride in tea plant ($\bar{x}\pm s, n=3$)

$c(Al^{3+}):c(F^-)$	对照	3:1	2:1	1:1	1:2	1:3	1:5	1:10
转移系数	0.52±0.11	0.86±0.18	0.81±0.04	0.97±0.06	0.55±0.06	0.94±0.05	0.98±0.31	0.57±0.22

转移系数(translocation factor，TF)是指地上部元素的含量与地下部同种元素含量的比值，用来评价植物将某元素从地下向地上的运输能力。转移系数越大，元素从根系向地上部器官转运能力越强。以茶树地上部分F含量与根系F含量的比值计算F在茶树体内的转移系数(表2)可知，培养液中Al^{3+}的加入，促进了F在茶苗体内的转移，其转移系数在0.55～0.98之间。培养液中$c(Al^{3+}):c(F^-)$为1:2和1:10时，F在茶树体内的转移

系数与对照(0.52)相当，分别为0.55和0.57。但当培养液中$c(Al^{3+}):c(F^{-})$为1:1、1:3和1:5时，F从茶树根部向地上部分转移能力增强，分别为0.97、0.94和0.98此时茶树叶部F的含量也比对照增加了64.44%、142.84%和106.54%。

茶树体内的F主要是以F^{-}或Al/F络合物的形式存在，具有向生长部位转移的特性，并随叶片生长而累积[3]。阮建云等[7]研究表明，茶树根系从溶液中和土壤中吸收的F通过木质部向地上部运输，主要在茶树叶片中积累，分布在茎和根系中的量非常有限。Liang等[20]认为Al/F络合物(AlF_2^{+}、$A1F^{2+}$、AlF_4^{-})是茶树体内F的主要存在和运输形态，且茶树叶片中F、Al浓度呈显著正相关。Nagata等[21]利用^{27}Al-NMR和^{19}F-NMR研究显示，茶树从土壤中吸收的F在木质部以Al/F络合物形态向地上部分运输，并以$A1F_n^{3-n}$的形式存在于叶片中。F、Al按一定比例络合并富集于叶片等器官中，消除了F^{-}和Al^{3+}本身的毒性，这可能是茶树高富集F的重要生理机制。

3 结 论

3.1 低浓度Al^{3+}促进了F在茶树根部的富集，且主要以F离子态形式被茶树吸收；而高浓度Al^{3+}抑制了F在茶树根部的富集，且主要以Al/F络合态形式被茶树吸收。当培养液中$c(Al^{3+}):c(F^{-})\geq1$时，抑制了茶树根部对F的吸收富集，而$c(Al^{3+}):c(F^{-})<1$时，促进了茶树根部对F的吸收富集。加入不同浓度Al^{3+}促进了F在茶树叶部的富集。

3.2 随$c(Al^{3+}):c(F^{-})$比例减小，Al/F络合物所带正电荷数的减少，茶苗吸收F^{-}占吸收总F的比例逐步增加。当$c(Al^{3+}):c(F^{-})$=1:3时，F在茶树体内的富集量大于带正电荷的Al/F络合物，而小于带负电荷的氟离子。

3.3 Al促进了茶树体内氟向地上部分转移，尤以当$c(Al^{3+}):c(F^{-})$为1:1、1:3、1:5时，F从茶树根部向地上部分转移系数最高。

参考文献：

[1] 陆英, 刘仲华. 茶叶中氟的研究进展[J]. 吉首大学学报, 2005, 25(4): 84-88.

[2] 刘超, 吴方正, 傅柳松, 等. 茶叶中的氟含量及测定方法研究[J]. 农业环境保护, 1998, 17(3): 132-135.

[3] 向勤锃, 刘德华. 氟对人体的作用及茶树富氟的研究进展与展望[J]. 茶叶通讯, 2002(2): 34-37.

[4] 张显晨, 郜红建, 张正竹, 等. 茶叶氟化物提取方法对比与电位法测定条件优化[J]. 安徽农业大学学报, 2011, 38(1): 27-30.

[5] 马立锋, 阮建云, 石元值, 等. 中国茶叶中的氟近十年来的研究进展[J]. 生态环境, 2003, l2(3): 342-345.

[6] 李丽霞, 杜晓, 何春雷. 水培茶苗对氟的吸收累积特性[J]. 四川农业大学学报, 2008, 26(1): 59-63.

[7] 阮建云, 杨亚军, 马立锋. 茶叶氟研究进展: 累积特性、含量及安全性评价[J]. 茶叶科学, 2007, 27(1): 1-7.

[8] 向勤裎, 刘德华. 茶树富铝的研究进展及展望[J]. 茶叶通讯, 2003(2): 33-36.

[9] 廖万有. 茶生物圈中铝的生物学效应及研究展望[J]. 福建茶叶, 1995(4): 13-17.

[10] 童启庆. 茶树栽培学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 344-355.

[11] 郜红建, 张显晨, 蔡荟梅, 等. 水中氟化物测定过程中TISAB的对比分析与优化[J]. 环境化学, 2010, 29(4): 754-758.

[12] 罗亮, 谢忠雷, 刘鹏, 等. 茶树对铝毒生理响应的研究[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(2): 305-308.

[13] DING R X, HUANG X. Biogeochemical cycle aluminum and fluoride in tea garden soil system and its relationship to soil acidification[J]. Acta Pedolngica Sinica, 1991, 28(3): 229-236.

[14] 小西茂毅. 铝对茶树生长的促进作用[J]. 茶叶, 1995, 21(3): 18-21.

[15] 贾国云, 刘金珠, 胡娟霞, 等. 茶树耐铝机制的研究进展[J]. 蚕桑茶叶通讯, 2009(6): 25-26.

[16] 伍炳华, 许允文, 韩文炎. 铝对茶树根系生长及氮素营养的影响[J]. 中国茶叶, 1995(2): 28-29.

[17] 马立锋. 茶树对氟吸收累积特性及降氟措施研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2004.

[18] TAKMAZ-NISANCIOGLU S, DAVISON A W. Effects of aluminium on fluoride uptake by plants[J]. New Phytologist, 1988, 109(2): 149-153.

[19] 高绪评, 王萍, 王之让, 等. 环境氟迁移与茶叶氟富集的关系[J]. 植物资源与环境, 1997, 6(2): 43-47.

[20] LIANG J, SHYU T, LIN H. The aluminium complexes in the xylem sap of tea plant[J]. Journal of the Chinese Agricultural Society, 1996, 34: 695-702.

[21] NAGATA T, HAYATSU M, KOSUGE N. Aluminium kinetics in the tea plant using ^{27}A1 and ^{19}F NMR[J]. Phytochem, 1993, 32: 771-775.