

# 茶树被茶跗线螨取食后重要生理生化指标的变化趋势分析

张 辉 李慧玲 李良德 王庆森 曾明森 吴光远\*

(福建省农业科学院茶叶研究所, 福安 355000)

**摘要:** 为明确茶树 *Camellia sinensis* 被茶跗线螨 *Polyphagotarsonemus latus* 为害后的生理生化指标变化, 采用室内常规生理指标测定方法及高效液相色谱法测定不同受害程度茶树叶片的生理生化指标、活性氧代谢酶和鲜叶挥发物成分的变化。结果显示: 茶树叶片中的初生代谢产物叶绿素、类胡萝卜素和可溶性糖含量随着受害程度的加深呈降低趋势, 均较对照显著降低; 次生代谢产物茶多酚、咖啡碱和儿茶素含量在不同受害程度下均较对照有所增加, 其中丝氨酸、谷氨酸、茶氨酸、脯氨酸、瓜氨酸和  $\gamma$ -氨基丁酸 6 种氨基酸含量均在重度受害时达到最大, 较对照分别显著增加了 52.00%、48.67%、63.16%、500.00%、107.41% 和 100.00%。表没食子儿茶素没食子酸酯在受害叶片中的含量均较健康叶片显著增加, 在轻度受害时含量最高, 表儿茶素在受害叶中的含量均低于健康叶片; 抗坏血酸过氧化物酶、脱氢抗坏血酸还原酶和单脱氢抗坏血酸还原酶的活性均随着受害程度的加深呈下降趋势, 谷胱甘肽还原酶活性则呈先升高后降低的趋势, 在轻度受害叶片中活性最高, 为对照的 1.24 倍。茶跗线螨可诱导茶树叶片释放大量挥发物, 与对照相比增加了 14 种物质, 挥发物总量随着受害程度加深而增加。

**关键词:** 茶跗线螨; 茶树; 初生代谢产物; 次生代谢产物; 活性氧代谢酶; 挥发物

## Main physiological variation in tea leaves fed by broad mite *Polyphagotarsonemus latus* (Banks)

Zhang Hui Li Huiling Li Liangde Wang Qingsen Zeng Mingsen Wu Guangyuan\*

(Institute of Tea Research, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fu'an 355000, Fujian Province, China)

**Abstract:** In order to clarify the changes of physiological and biochemical indexes, tea injured by broad mite *Polyphagotarsonemus latus*, the reactive oxygen metabolizing enzymes, volatiles, physiological and biochemical indexes of tea leaves were investigated by the method of indoor routine physiological indexes and high-performance liquid chromatography. The results showed that the contents of chlorophyll, carotenoids and soluble sugar were decreased with the damage by *P. latus* increased, and significantly lower than the control group. The tea polyphenols, caffeine, catechin of the leaves damaged by *P. latus* were increased compared with control group. The serine, glutamate, theanine, proline, citrulline, and  $\gamma$ -aminobutyric acid in the severely damaged leaves were increased significantly compared with control group, rising by 52.00%, 48.67%, 63.16%, 500.00%, 107.41%, and 100.00%, respectively. The content of epigallocatechin gallate of the leaves damaged by *P. latus* was increased significantly compared with control group, and reached to the highest in the lightly damaged leaf, while the content of epicatechin in the victim leaves was lower than that of healthy leaves. The reactive oxygen species of the leaf

基金项目: 国家现代农业(茶叶)产业技术体系(CARS-23), 福建省自然科学基金(2016J0117), 福建省科技厅星火计划项目(2014S0019)

\* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: gywupt@163.com

收稿日期: 2016-11-30

damaged by *P. latus* was changed; the activity of ascorbate peroxidase, dehydroascorbate reductase and monodehydroascorbate reductase were declined with the *P. latus* damage increased; the activity of glutathione reductase were declined, and the activity of glutathione reductase was the highest in the lightly damaged leaves, which was 1.24 times of the control. The variety of volatiles was released from the leaves damaged by *P. latus*. Fourteen aromatics were detected only in the leaves damaged by *P. latus*. The content of volatiles was increased with the *P. latus* damage increased.

**Key words:** *Polyphagotarsonemus latus*; *Camellia sinensis*; primary metabolite; secondary metabolite; reactive oxygen metabolizing enzyme; volatile

茶跗线螨 *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) 又称侧多跗线螨、茶黄蜘蛛、茶黄螨,为世界性害螨,也是我国茶区及大部分蔬菜区的重要害螨,严重为害茶树 *Camellia sinensis* (L.) O. Ktze、辣椒 *Capsicum annuum* L.、番茄 *Solanum lycopersicum* Miller、大豆 *Glycine max* (L.) Merr、茄子 *Solanum melongena* L. 等30余科70余属114种植物,以成、若螨刺吸茶树嫩芽汁液,使叶片背部出现铁锈色,叶片硬化增厚,叶尖扭曲变形,生长缓慢或停止,受害叶芽可减少63%左右,严重影响茶叶的产量和品质(洪晓月, 2012)。目前,该螨的防治仍以化学防治为主,由于长期使用大量药剂,使害虫产生了严重的抗药性,因此制定科学合理的茶跗线螨治理策略势在必行。

在植物与螨类的长期协同进化过程中,植物为抵抗螨类为害而形成一套直接防御反应,从植物生物化学上分类,直接防御反应分为3类,即改变自身营养、产生防御蛋白(防御酶活性的改变)、产生有毒的次生化合物,直接或间接杀死螨类(秦秋菊和高希武, 2005)。这些防御反应导致植物抗性相关的生理生化指标发生变化,变化趋势与受害程度和受害时间相关。何叶(2012)研究发现辣椒中保护酶和次生代谢产物的变化与受害时间有关,随受害时间的增加保护酶如超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和过氧化物酶活性先升高后降低,苯丙氨酸解氨酶活性在感性品种中先下降后上升,在抗性品种中先上升后降低,单宁和多酚含量呈现先升高后降低的趋势; Evaristo et al. (2013)研究表明,麻风树 *Jatropha carcase* L. 受到茶跗线螨为害后的生理反应表现为净光合速率、气孔导度和蒸腾速率较未受害植物分别下降了50.5%、46.2%和51.6%,光合色素含量没有出现显著变化; Grinberg et al. (2005)发现黄瓜 *Cucumis sativus* L. 植株遭到茶跗线螨为害时,2个脂肪酰合酶的转录量随着受害时间增加而先增加后减少,72 h时转录量最大;刘奕清等(1994)研究结果显示,

茶跗线螨为害后茶树叶片净光合速率随着接雌螨量增加及受害时间推移均呈指数函数下降。

茶跗线螨为害后茶树净光合速率为何下降,对其初生代谢产物影响如何,具有防御作用的次生代谢产物如生物碱类、防御酶及具有间接和直接防御作用的植物挥发物如何变化等内容目前尚无系统研究报道。而在初生代谢中光合色素含量决定光合速率,其光合产物可溶性糖是植食性害虫生长发育的必需物质,因此本研究以茶树为材料,测定其受茶跗线螨不同程度为害后初生代谢产物光合色素和可溶性糖、次生代谢产物游离氨基酸、茶多酚及儿茶素组分及抗氧化酶类等抗性相关生理生化指标的动态变化,探索该螨为害对茶树的生理生化影响,以期揭示茶树受害后对茶跗线螨的抵御机制,为螨害综合治理及茶树逆境生理研究提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试植物:茶树品种为福云6号,树龄为15年,生长于福建省农业科学院茶叶研究所二号山实验基地,在茶跗线螨为害盛期,田间采集同株同枝叶芽下2叶,大小一致,无其它病虫害。一部分鲜叶样品直接用于可溶性糖含量测定,一部分立即用打孔器打取面积0.608 cm<sup>2</sup>的圆片,然后放入液氮中速冻,冰冻后转移到-80℃低温冰箱中贮藏,供光合色素和活性氧含量的测定;另一部分代表性叶片蒸汽杀青2 min固定,取出摊凉至室温,再用中低火干燥后密封于冰箱,用于游离氨基酸、茶多酚、儿茶素、咖啡碱和挥发物含量的测定。

试剂及仪器:试验所用试剂均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司。UV-2600分光光度计,日本岛津公司;AccQ-Tag氨基酸自动分析仪,美国沃特世公司;Agilent A1100高效液相色谱仪、6890N-5975B气相色谱-质谱联用仪,安捷伦科技有限公司。

## 1.2 方法

### 1.2.1 受害茶树初生代谢产物含量的测定

根据陈应武等(2006)采样方法将叶片按受害程度不同分为4个处理:健康对照、轻度受害(受害面积/叶片面积 $\leq 1/3$ )、中度受害( $1/3 <$ 受害面积/叶片面积 $< 2/3$ )、重度受害(受害面积/叶片面积 $\geq 2/3$ )。光合色素含量测定参照 Lichtenthaler (1987) 和 Lin et al. (2009) 的方法。取2个冷冻的叶圆片剪碎放入试管中,加入80%丙酮8 mL,放置在暗处48 h,取上清液于比色杯中,测定其663、645、470 nm处的吸光度,计算叶绿素总量、叶绿素a、叶绿素b与类胡萝卜素含量。每个处理4次重复。

可溶性糖含量采用蒽酮比色法测定(李合生, 2000)。称取样品5 g置于500 mL容量瓶中,加入100℃左右的水100 mL、硫酸锌溶液5 mL,沸水浴上加热5 min后取出,振荡容量瓶并立即加入亚铁氰化钾溶液5 mL,待液体冷却后加超纯净水至刻度,摇匀并过滤。取滤液25 mL于250 mL容量瓶中,加超纯净水稀释至刻度,摇匀。取稀释液1 mL,自瓶壁缓慢加入蒽酮溶液10 mL,剧烈摇匀。在沸水浴中准确加热6 min,取出,冷却至室温。用1 cm比色杯在610 nm处测定吸光度,同时用葡萄糖制作标准曲线,计算可溶性糖含量。每个处理4次重复。

### 1.2.2 茶树受害后次生代谢产物含量的测定

称取上述烘干样1.0 g磨碎后置于500 mL烧杯中,加4.5 g氧化镁及300 mL沸水,于沸水浴中加热浸提20 min,每隔5 min摇动1次,浸提完毕后立即趁热减压过滤,滤液移入500 mL容量瓶中,冷却后用超纯净水定容至刻度,混匀。取一部分试液过0.45  $\mu$ m滤膜,滤液于棕色试剂瓶中存储备用。

游离氨基酸总量测定采用茚三酮显色方法(GB8314—2002)。取试液1 mL注入25 mL容量瓶中,加pH 8.0的磷酸盐缓冲液4 mL和2%的茚三酮溶液0.5 mL,在沸水浴中加热15 min。待冷却后加超纯净水定容至25 mL,放置10 min后用5 mm比色杯,在570 nm处以空白溶液作参比,测定吸光度。用茶氨酸制作标准曲线,计算游离氨基酸总量。每个处理3次重复。氨基酸组分采用氨基酸自动分析仪测定丝氨酸、谷氨酸、茶氨酸、脯氨酸、瓜氨酸等氨基酸的含量。每处理3次重复。

茶多酚测定采用酒石酸铁比色法(GB8313—2002)。取试液1 mL注入25 mL容量瓶中,加4 mL水和5 mL酒石酸亚铁溶液,充分混合,再加pH 7.5的磷酸盐缓冲液至刻度,用10 mm比色杯在540 nm

处以试液作参比,测定吸光度,用茶多酚制作标准曲线,计算茶多酚含量。每个处理3次重复。

儿茶素总量测定采用香荚兰素比色法,取试液后,按体积比1:1加入1%香兰素/乙醇溶液和30%浓硫酸/乙醇溶液,在室温下反应5 min后,在540 nm处以提取液作参比,测定吸光度,以儿茶素制作标准曲线,计算儿茶素总量。每个处理3次重复。

儿茶素组分及咖啡碱含量测定采用高效液相色谱法(吕海鹏等,2010)。儿茶素组分包括表儿茶素、表没食子儿茶素、表儿茶素没食子酸酯、表没食子儿茶素没食子酸酯和没食子酸。高效液相色谱仪采用VWD检测器;色谱柱为ZORBAX SB-C18 ODS, 5  $\mu$ m, 4.6 m $\times$ 150 mm;流动相中A为2%冰乙酸,B为乙腈,流速为1 mL/min,柱温为30℃,检测波长为280 nm,进样量5  $\mu$ L,梯度洗脱,流动相B在16 min内由6.5%线性梯度变化到25%,25 min回到初始状态,平衡10 min。每个处理3次重复。

### 1.2.3 茶树受害后活性氧代谢酶活性的测定

取上述2个冷冻的叶圆片放到预冷研钵中,加2 mL提取液(pH 7.5的50 mmol/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ -KOH、1 mmol/L 乙二胺四乙酸、0.5%曲拉通X-100、5%不溶性聚乙烯吡咯烷酮)和少量石英砂,在冰浴中研磨成匀浆,用冰冻离心机15 000 $\times$ g下离心10 min,上清液用于酶活性测定(Chen et al., 2005)。过氧化氢酶(catalase, CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)、脱氢抗坏血酸还原酶(dehydroascorbate reductase, DHAR)、谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)、单脱氢抗坏血酸还原酶(monodehydroascorbate reductase, MDAR)分别在240、290、265、340、340 nm处测定吸光度,按照Chen & Cheng(2003)方法计算各种酶活性。每个处理4次重复。

### 1.2.4 茶树受害后挥发物成分及含量的测定

挥发物提取采用顶空固相微萃取方法进行。气相色谱-质谱联用仪条件:色谱柱为HP-5MS(30 m $\times$ 0.25 mm ID $\times$ 0.25  $\mu$ m膜厚);载气为高纯氦气;进样口温度为230℃;脉冲不分流,进样量1  $\mu$ L,柱流速1 mL/min;色谱-质谱接口温度为250℃;离子源温度为230℃;离子化方式为EI;电子能量为70 eV。程序升温参数:50℃保持2 min,以5℃/min升至180℃,保持2 min,再以10℃/min升到230℃,保持5 min。通过NIST、WILEY等在线质谱数据库进行成分检索,参考资料确定挥发物各组分,并采用峰面积归一化法,以癸酸乙酯为内标,进行各成分的相对



定量分析。每个处理3次重复。

1.3 数据分析

采用SPSS 16.0软件对试验数据进行方差分析,应用Duncan氏新复极差法进行处理间的差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 茶跗线螨为害对茶树初生代谢产物的影响

轻度、中度和重度受害叶片的叶绿素总含量均显著低于健康叶片,且叶绿素总含量随着受害程度的加深逐渐降低,在重度受害时降至最低,为343.41 mg/m<sup>2</sup>,与健康叶片相比下降了53.33%,但不

同受害程度叶片的叶绿素总量差异不显著。轻度、中度和重度受害叶片的叶绿素a和叶绿素b含量与健康叶片相比均显著下降,仅在中度与重度受害叶片间差异不显著,叶绿素a含量较对照分别显著下降了23.62%、49.69%和52.87%,叶绿素b含量较对照分别显著下降了28.23%、54.44%和54.64%(表1)。

不同受害程度叶片的类胡萝卜素和可溶性糖含量与健康叶片差异显著,均随着受害程度加深而逐渐降低,在重度受害时降至最低,分别是97.71 mg/m<sup>2</sup>和4.09 mg/g,但当受害程度达到中级以后,叶片中类胡萝卜素和可溶性糖的含量均不再发生显著变化(表1)。

表1 茶跗线螨为害对茶树叶片代谢产物的影响  
Table 1 Effects of *Polyphagotarsonemus latus* stress on leaf metabolites

| 代谢产物 Metabolite                |                                              | 健康叶片<br>Healthy leaf | 轻度受害<br>Light damage | 中度受害<br>Moderate damage | 重度受害<br>Severe damage |
|--------------------------------|----------------------------------------------|----------------------|----------------------|-------------------------|-----------------------|
| 初生代谢产物<br>Primary metabolite   | 叶绿素总量 Total chlorophyll (mg/m <sup>2</sup> ) | 735.00±33.59 Aa      | 519.87±79.89 ABb     | 361.04±19.64 BCb        | 343.41±2.31 BCb       |
|                                | 叶绿素a Chlorophyll a (mg/m <sup>2</sup> )      | 543.64±22.70 Aa      | 415.21±39.21 ABb     | 273.48±54.09 BCc        | 256.21±1.54 Cc        |
|                                | 叶绿素b Chlorophyll b (mg/m <sup>2</sup> )      | 192.20±11.01 Aa      | 137.94±10.34 ABb     | 87.57±6.23 BCc          | 87.19±0.96 BCc        |
|                                | 类胡萝卜素 Carotenoids (mg/m <sup>2</sup> )       | 149.76±7.66 Aa       | 120.18±24.60 Bb      | 105.39±6.40 Bbc         | 97.71±2.46 Bc         |
|                                | 可溶性糖 Soluble sugar (mg/g)                    | 8.91±0.64 Aa         | 7.18±0.19 Bb         | 5.04±0.10 Cc            | 4.09±0.19 Cc          |
| 次生代谢产物<br>Secondary metabolite | 茶多酚 Tea polyphones (%)                       | 14.70±0.25 Bb        | 17.63±0.64 Aa        | 16.67±0.24 ABa          | 15.07±0.32 Bb         |
|                                | 儿茶素总量 Catechin (%)                           | 10.47±0.21 Bb        | 12.83±0.65 Aa        | 11.60±0.35 ABab         | 11.70±0.31 ABab       |
|                                | 游离氨基酸 Free amino acid (%)                    | 3.60±0.03 ABa        | 3.67±0.23 ABa        | 3.06±0.10 Bb            | 3.86±0.03 Aa          |
|                                | 咖啡碱 Caffeine (%)                             | 1.72±0.01 Bc         | 2.83±0.25 Aa         | 2.30±0.12 ABb           | 2.67±0.07 Aab         |

表中数据为平均数±标准误。同行不同大、小字母分别表示经Duncan氏新复极差法检验在P<0.01和P<0.05水平差异显著。Data in the table are mean±SE. Different uppercase or lowercase letters in the same row indicate significant difference at P<0.01 or P<0.05 level by Duncan's new multiple range test.

2.2 茶跗线螨为害对茶树次生代谢产物的影响

2.2.1 主要生化成分含量的变化

茶树叶片中茶多酚含量伴随受害程度的加深呈现先升高后降低的趋势,在轻度受害叶片中含量显著升高并达到最大,为17.63%,中度受害叶片中含量次之,也显著高于健康叶片,仅重度受害叶片与健康叶片间差异不显著。茶树受害后儿茶素总量均较对照有所增加,在轻度受害时达到最大,为12.83%。游离氨基酸含量在中度受害时显著低于其它各处理,为3.06%,重度受害叶片的游离氨基酸含量高于健康叶片和轻度受害叶片,但差异不显著。咖啡碱在不同受害程度叶片中的含量均显著高于健康叶片,在轻度受害叶片中含量最高为2.83%(表1)。

2.2.2 氨基酸组分的变化

在游离氨基酸组分检测中发现丝氨酸、谷氨酸、茶氨酸、脯氨酸、瓜氨酸和γ-氨基丁酸在受害叶片中的含量较健康叶片均显著增加,均在重度受害时达

到最大,分别为0.38%、2.23%、2.48%、0.06%、0.56%和0.06%,较对照分别显著增加了52.00%、48.67%、63.16%、500.00%、107.41%和100.00%。天冬氨酸含量在重度受害叶片中最高,显著高于其余各处理及对照,而轻度、中度受害叶片与健康叶片之间差异不显著。苏氨酸在不同受害叶片中的含量变化没有明显规律性(表2)。

2.2.3 儿茶素组分的变化

表儿茶素没食子酸酯和儿茶素含量在中度受害叶片中均显著低于健康叶片,分别为1.60%和0.26%,而在轻度受害叶片中均显著高于健康叶片。表没食子儿茶素没食子酸酯含量在受害叶片中较健康叶片均显著增加,在轻度受害时达到最大,为6.34%,较对照显著增加41.52%。表没食子儿茶素和没食子酸的含量在重度受害叶片中均低于健康叶片,较对照分别降低25.55%和15.79%,受害叶中表儿茶素含量均低于健康叶片,在重度受害时最低,为1.13%(表2)。

表2 茶跗线螨为害对茶树叶片氨基酸和儿茶素组分含量的影响

Table 2 Effects of *Polyphagotarsonemus latus* on the leaf amino acid and catchins composition of tea %

| 指标 Index                           |                                            | 健康叶片<br>Healthy leaf | 轻度受害<br>Light damage | 中度受害<br>Moderate damage | 重度受害<br>Severe damage |
|------------------------------------|--------------------------------------------|----------------------|----------------------|-------------------------|-----------------------|
| 氨基酸组分<br>Amino acid<br>composition | 天冬氨酸 Aspartic acid                         | 0.61±0.02 Ab         | 0.63±0.01 Ab         | 0.60±0.01 Ab            | 0.70±0.01 Aa          |
|                                    | 苏氨酸 Treonine                               | 0.12±0.02 Aab        | 0.11±0.02 Aab        | 0.09±0.12 Ab            | 0.13±0.02 Aa          |
|                                    | 丝氨酸 Serine                                 | 0.25±0.02 Bc         | 0.30±0.03 ABbc       | 0.33±0.04 ABab          | 0.38±0.02 Aa          |
|                                    | 谷氨酸 Glutamic acid                          | 1.50±0.05 Cc         | 1.91±0.04 Bb         | 1.87±0.05 Bb            | 2.23±0.06 Aa          |
|                                    | 茶氨酸 Theanine                               | 1.52±0.05 Cd         | 2.20±0.09 Bb         | 1.98±0.04 Bc            | 2.48±0.05 Aa          |
|                                    | 脯氨酸 Proline                                | 0.01±0.00 Dd         | 0.05±0.01 Bb         | 0.04±0.01 Cc            | 0.06±0.01 Aa          |
|                                    | 瓜氨酸 Citrulline                             | 0.27±0.02 Cc         | 0.42±0.04 Bb         | 0.36±0.04 BCb           | 0.56±0.03 Aa          |
|                                    | $\gamma$ -氨基丁酸 $\gamma$ -aminobutyric acid | 0.03±0.01 Cb         | 0.03±0.01 Cb         | 0.04±0.01 Bab           | 0.06±0.01 Aa          |
| 儿茶素组分<br>Catchins                  | 表儿茶素没食子酸酯<br>Epicatechin gallate           | 1.91±0.35 Bc         | 2.66±0.12 Aa         | 1.60±0.01 Cd            | 2.37±0.02 Ab          |
|                                    | 表没食子儿茶素没食子酸酯<br>Epigallocatechin gallate   | 4.48±0.04 Cc         | 6.34±0.13 Aa         | 6.00±0.06 ABb           | 5.94±0.35 Bb          |
|                                    | 表没食子儿茶素<br>(-)-epigallocatechin            | 2.27±0.03 BCb        | 2.57±0.25 ABb        | 3.14±0.20 Aa            | 1.69±0.02 Cc          |
|                                    | 表儿茶素 L-epicatechin                         | 1.48±0.04 Aa         | 1.18±0.10 ABb        | 1.41±0.07 ABa           | 1.13±0.05 Bb          |
|                                    | 儿茶素 D,L-catechin                           | 0.30±0.01 Bbc        | 0.48±0.04 Aa         | 0.26±0.03 Bc            | 0.37±0.02 ABb         |
|                                    | 没食子酸 Gallic acid                           | 0.38±0.00 Bb         | 0.54±0.03 Aa         | 0.38±0.02 Bb            | 0.32±0.01 Bb          |

表中数据为平均数±标准误。同行不同大、小字母分别表示经 Duncan 氏新复极差法检验在  $P<0.01$  和  $P<0.05$  水平差异显著。Data in the table are mean±SE. Different uppercase or lowercase letters in the same row indicate significant difference at  $P<0.01$  or  $P<0.05$  level by Duncan's new multiple range test.

### 2.3 茶跗线螨为害对茶树活性氧代谢酶类的影响

CAT 活性在受害叶片中有所下降,但各处理间差异不显著;APX、DHAR 和 MDAR 活性随着受害程度的加深呈下降趋势,在重度受害时活性最低,较

健康叶片分别降低了 44.09%、39.05% 和 32.69%;GR 活性随叶片受害程度加深呈先升高后降低趋势,在轻度受害叶片中最高,显著高于对照及剩余处理,为对照的 1.24 倍,而中度和重度处理均显著低于对照(表 3)。

表3 茶跗线螨为害对茶树叶片活性氧代谢酶活性的影响

Table 3 Effects of *Polyphagotarsonemus latus* stress on the leaf reactive oxygen species  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 

| 活性氧代谢酶<br>Reactive oxygen metabolizing enzyme | 健康叶片<br>Healthy leaf | 轻度受害<br>Light damage | 中度受害<br>Moderate damage | 重度受害<br>Severe damage |
|-----------------------------------------------|----------------------|----------------------|-------------------------|-----------------------|
| 过氧化氢酶 CAT                                     | 33.68±2.95 Aa        | 32.42±1.84 Aa        | 32.00±1.52 Aa           | 28.63±2.95 Aa         |
| 抗坏血酸过氧化物酶 APX                                 | 225.70±18.89 Aa      | 186.60±17.02 ABab    | 142.17±6.49 Bbc         | 126.18±23.82 Bc       |
| 脱氢抗坏血酸还原酶 DHAR                                | 11.37±0.67 Aa        | 11.29±0.91 Aa        | 10.49±0.93 Aa           | 6.93±1.27 Ab          |
| 谷胱甘肽还原酶 GR                                    | 10.83±0.29 Ab        | 13.42±1.18 Aa        | 6.96±0.73 Bc            | 4.50±0.17 Bd          |
| 单脱氢抗坏血酸还原酶 MDAR                               | 139.12±3.54 Aa       | 105.68±5.35 Ab       | 113.70±16.44 Aab        | 93.64±4.82 Ab         |

表中数据为平均数±标准误。同行不同大、小字母分别表示经 Duncan 氏新复极差法检验在  $P<0.01$  和  $P<0.05$  水平差异显著。Data in the table are mean±SE. Different uppercase or lowercase letters in the same row indicate significant difference at  $P<0.01$  or  $P<0.05$  level by Duncan's new multiple range test.

### 2.4 茶跗线螨为害对茶树叶片挥发物组分的影响

萜烯类化合物合成途径共检测到 20 种挥发物,与健康叶片相比,受害叶片中共产生 9 种新的挥发物,分别是聚花伞素、1,3,8-对-薄荷三烯、香茅醛、橙花醛、雪松醇、 $\alpha$ -紫罗酮、D-柠檬烯、氧化石竹烯和 (+)- $\beta$ -雪松烯;轻度受害叶片中诱导产生的新挥发

物最多,为 6 种,其中 1,3,8-对-薄荷三烯仅在轻度受害叶片中被检测到, $\beta$ -罗勒烯、 $\alpha$ -法呢烯、3-萜烯含量随受害程度加深呈上升趋势,而长叶烯和  $\beta$ -紫罗酮含量则呈下降趋势(表 4)。受害叶中萜烯类物质总含量随受害程度加深呈增加趋势,从健康叶片中的 19.7% 增加到重度受害叶片中的 22.77%。

脂氧合酶合成途径中共检测到绿叶挥发物9种,其中壬醛、己酸-顺-3-己烯酯和葵醛含量在受害叶中随着受害程度加深而逐步升高,而顺-乙酸-3-己烯酯含量在受害叶片中均较健康叶片低。受害叶片较健康叶片新产生了己醛、丁酸己酯、顺式-3-己烯异戊酸酯和2-乙基-1-己烯-醇共4种挥发物,其中己醛含量随着受害程度加深而逐渐增加,后3种挥发物仅

在轻度受害叶片中被检测到(表4)。绿叶挥发物总含量随着受害程度的加深而逐渐增加,在重度受害时达到最高,为25.61%。

莽草酸合成途径中共检测到2种挥发物,总含量随着受害程度加深呈先升高后降低的趋势。苯甲醛含量在轻度受害叶片中最高,为1.90%;新的挥发物水杨酸甲酯仅在轻度受害叶片中被诱导产生(表4)。

表4 茶跗线螨为害对茶树叶片鲜叶挥发物组分的影响  
Table 4 Volatiles from tea infested by *Polyphagotarsonemus latus*

| 虫害诱导挥发物<br>Herbivore-induced plant volatile     | 健康叶片<br>Health leaf | 轻度受害<br>Light damage | 中度受害<br>Moderate damage | 重度受害<br>Severe damage |
|-------------------------------------------------|---------------------|----------------------|-------------------------|-----------------------|
| 萜烯类化合物合成途径 Terpene compound synthesis pathway   |                     |                      |                         |                       |
| 1 聚花伞素 <i>m</i> -cymene                         | ND                  | 0.58                 | 0.42                    | 0.51                  |
| 2 $\beta$ -罗勒烯 $\beta$ -ocimene                 | 2.20                | 2.43                 | 2.29                    | 3.10                  |
| 3 3-蒎烯 3-carene                                 | 7.42                | 7.49                 | 8.45                    | 8.28                  |
| 4 1,3,8-对-薄荷三烯 1,3,8-p-menthatriene             | ND                  | 0.65                 | ND                      | ND                    |
| 5 氧化芳樟醇(吡喃型) Linalool oxide (pyran)             | 0.80                | ND                   | ND                      | ND                    |
| 6 葑烯 Fenchene                                   | 0.74                | 0.50                 | 0.78                    | 0.63                  |
| 7 长叶烯 Longifolene                               | 1.05                | 0.85                 | 0.88                    | 0.47                  |
| 8 柏木烯 Cedrene                                   | 0.61                | 0.54                 | 0.74                    | 0.64                  |
| 9 石竹烯 Caryophyllene                             | 1.41                | 1.20                 | 1.41                    | 2.19                  |
| 10 4,9-杜松二烯 4,9-cadinadiene                     | 0.46                | 0.38                 | 0.58                    | 0.65                  |
| 11 $\alpha$ -法呢烯 $\alpha$ -farnesene            | 1.84                | 1.96                 | 2.30                    | 2.91                  |
| 12 $\delta$ -杜松油烯 $\delta$ -cadinene            | 0.70                | ND                   | 0.72                    | 0.78                  |
| 13 氧化石竹烯 Caryophyllene oxide                    | ND                  | ND                   | ND                      | 0.58                  |
| 14 (+)- $\beta$ -雪松烯 (+)- $\beta$ -himachalene  | ND                  | ND                   | ND                      | 0.29                  |
| 15 香茅醛 3,7-dimethyl-6-octenal                   | ND                  | 0.20                 | ND                      | ND                    |
| 16 橙花醛 Neral                                    | ND                  | 0.54                 | ND                      | ND                    |
| 17 D-柠檬烯 D-limonene                             | ND                  | ND                   | 1.08                    | ND                    |
| 18 雪松醇 Cedrol                                   | ND                  | 0.24                 | ND                      | ND                    |
| 19 $\alpha$ -紫罗酮 $\alpha$ -ionone               | ND                  | 0.33                 | 0.55                    | 0.51                  |
| 20 $\beta$ -紫罗酮 $\beta$ -ionone                 | 1.87                | 1.73                 | 1.77                    | 1.23                  |
| 总计 Total                                        | 19.17               | 20.67                | 21.97                   | 22.77                 |
| 脂氧合酶合成途径 Lipxygenase synthesis pathway          |                     |                      |                         |                       |
| 1 己醛 Hexanal                                    | ND                  | 0.23                 | 0.71                    | 1.01                  |
| 2 丁酸己酯 Hexyl butyrate                           | ND                  | 0.69                 | ND                      | ND                    |
| 3 顺-乙酸-3-己烯酯 (Z)-3-hexen-1-ol, acetate          | 4.64                | 2.34                 | 2.54                    | 4.00                  |
| 4 壬醛 Nonanal                                    | 16.67               | 19.85                | 22.59                   | 15.30                 |
| 5 丁酸-顺-3-己烯酯 Butanoic acid, (Z)-3-hexenyl ester | 1.92                | 0.80                 | ND                      | 2.67                  |
| 6 己酸-顺-3-己烯酯 Hexanoic acid, (Z)-3-hexenyl ester | 0.34                | 0.45                 | 0.61                    | 0.96                  |
| 7 顺式-3-己烯异戊酸酯 <i>cis</i> -3-hexenyl isovalerate | ND                  | 0.41                 | ND                      | ND                    |
| 8 2-乙基-1-己烯-醇 2-butyl-1-hexene- octanol         | ND                  | 0.21                 | ND                      | ND                    |
| 9 葵醛 Decanal                                    | 0.81                | 0.90                 | 2.31                    | 1.67                  |
| 总计 Total                                        | 24.39               | 25.27                | 28.76                   | 25.61                 |
| 莽草酸合成途径 Shikimate synthesis pathway             |                     |                      |                         |                       |
| 1 苯甲醛 Benzaldehyde                              | 1.09                | 1.90                 | 1.62                    | 1.09                  |
| 2 水杨酸甲酯 Methyl salicylate                       | ND                  | 1.10                 | ND                      | ND                    |
| 总计 Total                                        | 1.09                | 3.00                 | 1.62                    | 1.09                  |

ND: 未检测出此物质。ND: Not detected.



### 3 讨论

光合色素在光合作用中具有吸收和传递光能的作用,其含量是决定光合速率的主要原因。本试验中,初生代谢产物中的光合色素含量随着茶树受害程度的加深而逐渐减少,这与刘奕清等(1994)研究认为茶树叶片光合速率随受害程度加深而降低的结果相吻合。同时这也与与辣椒受茶跗线螨为害后的情况相似(何叶,2012),但与麻风树叶受害后光合色素的变化不一致,即受茶跗线螨为害的麻风树叶片光合色素含量略有升高但变化不明显(Evaristo et al., 2013)。初生代谢产物可溶性糖是植食性害螨生长发育和繁殖的重要营养物,本试验中可溶性糖含量随着茶跗线螨为害程度加深而逐渐减少,一方面可能是由于茶跗线螨为刺吸式口器,可以通过吸取植物营养物质直接减少可溶性糖含量,另一方面可能是因为植株的光合产物积累减少,同时糖的生物合成受阻,可溶性糖生成量减少(刘奕清等,1994)。

次生代谢产物作为防御物质存在于许多植物中,对昆虫具有驱避、拒食、胃毒、触杀、生长发育抑制等生理活性。游离氨基酸、茶多酚、咖啡碱等属于茶树次生代谢产物,是植物自身减少昆虫为害的物质基础。本研究中,受害叶片与健康叶片相比茶多酚含量增加,且增加量随受害程度加深而减少,这与辣椒受害时多酚的变化规律相似(李庆等,2011),咖啡碱和儿茶素含量在受害叶中升高,这与刘奕清等(1999)发现抗茶跗线螨茶树具有高含量的游离氨基酸、茶多酚、咖啡碱的结果相吻合,原因可能是咖啡碱和茶多酚具有浓烈的苦涩味和收敛性,引起害虫拒食,多酚类物质能够结合可溶性蛋白质,形成不易消化吸收的络合物,对害虫的生长发育具有抑制作用。此外,茶树氨基酸对茶跗线螨的防御作用不仅与游离氨基酸含量相关,而且与氨基酸种类有关,重度受害叶片中游离氨基酸含量升高,增加了细胞液的浓度,对细胞起到保护作用,其组分中丝氨酸、茶氨酸、谷氨酸、瓜氨酸、脯氨酸和 $\gamma$ -氨基丁酸的含量也随着受害程度加深呈上升趋势,茶树叶片中这6种氨基酸含量的升高能使螨产生拒食反应(刘奕清等,1999;陈华才等,2000),从而抑制其种群生长发育和繁殖,降低茶树害螨的种群数量。本研究结果显示,表没食子儿茶素没食子酸酯在受害叶片中的含量较健康叶片均显著增加,轻度为害诱导后在体内快速大量积累,表儿茶素在受害叶中的含量均低于健康叶片,但这对茶跗线螨的作用尚需进一步研究。但刘丽芳(2011)研究表明,表没食子儿茶素没食子酸

酯对同样为茶树刺吸式害虫假眼小绿叶蝉 *Empoasca vitis* (Göthe) 有拒刺探和拒食作用。

植物体内活性氧代谢酶的过量表达可以有效清除植株体内的活性氧,提高多种作物对生物胁迫的抗性。茶跗线螨为害使茶树的活性氧代谢酶发生变化,抗坏血酸过氧化物酶、单脱氢抗坏血酸还原酶、过氧化氢酶、单脱氢抗坏血酸还原酶活性均随着茶树受害程度加深呈降低趋势,谷胱甘肽还原酶活性则先升高后降低。谷胱甘肽还原酶具有解毒、内源代谢和免受氧化损伤的功能,茶树叶在茶跗线螨轻度为害时,其活性的持续上升能够维持体内活性氧代谢平衡,使其体内的活性氧处于较低水平,当茶跗线螨为害再加深时,叶片的背部锈色加重,这可能是由于谷胱甘肽还原酶在此过程中起内源代谢作用,在细胞内与黄酮类物质结合,生成色素沉淀于液泡中(Mueller et al., 2000),所以谷胱甘肽还原酶活性随着茶树受害程度加深呈先升高后降低的趋势。茶树受茶跗线螨为害后,叶片CAT活性下降,在为害辣椒易感品种中亦出现相似规律(何叶,2012)。

本研究中,茶跗线螨诱导福云6号茶树释放的茶挥发物种类较健康叶片多,这与受茶跗线螨为害的四川小叶种释放的挥发物比正常茶稍多的结论相似,与螨害蜀永808释放的挥发物较健康茶少的结论相反(徐泽,2010)。福云6号和四川小叶种释放的挥发物种类增加,但增加数量不同,螨害福云6号的挥发物增加了14种,而螨害四川小叶种的挥发物增加了6种(徐泽,2010),说明茶树的受害程度影响其挥发物释放,这与蔡晓明(2009)研究的3种茶树害虫诱导茶树挥发物的释放规律一致,即一定范围内受害程度越深,诱导产生的挥发物释放量也越大,其中包含的新成型化合物的种类也越多。植物在受到植食性动物攻击后常释放大量挥发性物质,其生态功能之一就是吸引植食者的天敌,本试验中受害茶树释放 $\beta$ -罗勒烯、己酸-顺-3-己烯酯、己醛、苯甲醛、 $\alpha$ -法呢烯等吸引天敌的挥发物,且释放量随受害程度加深而增加,其中 $\beta$ -罗勒烯具有引诱天敌智利小植绥螨 *Phytoseiulus persimilis* 的作用(Dicke et al., 1990),水杨酸甲酯具有引诱智利小植绥螨(de Boer et al., 2004)和加州钝绥螨 *Neoseiulus californicus* 的作用(Shimoda, 2010),苯甲醛和水杨酸甲酯对大赤螨 *Anystis* sp. 具有显著引诱作用(徐泽,2010)。

### 参 考 文 献 (References)

- Cai XM. 2009. The emission of tea plant volatiles induced by three herbivore insect pests. Ph. D Thesis. Beijing: Chinese Academy of

- Agricultural Sciences (in Chinese) [蔡晓明. 2009. 三种茶树害虫诱导茶树挥发物的释放规律. 博士学位论文. 北京: 中国农业科学院]
- Chen HC, Xu N, Chen ZM. 2000. On the relationship between content of free amino acid in tea shoot and resistance of tea tree to tea pink mite *Acaphylla theae* Watt. Journal of Plant Protection, 27(4): 337–342 (in Chinese) [陈华才, 许宁, 陈宗懋. 2000. 游离氨基酸含量与茶树抗螨性的关系. 植物保护学报, 27(4): 337–342]
- Chen LS, Cheng L. 2003. Both xanthophyll cycle-dependent thermal dissipation and the antioxidant system are up-regulated in grape (*Vitis labrusca* L. cv. Concord) leaves in response to N limitation. Experimental Botany, 54(390): 2165–2175
- Chen LS, Qi YP, Liu XH. 2005. Effects of aluminum on light energy utilization and photo protective systems in citrus leaves. Annals of Botany, 96(1): 35–41
- Chen YW, Dou CH, Zhang XH, Li XR. 2006. Response of some physiological and biochemical properties of leaves of *Pyrus bretschneideri* Rehd. to infection by *Epitrimerus pyri* (Nalepa). Journal of University of Chinese Academy of Sciences, 23(4): 509–513 (in Chinese) [陈应武, 窦彩虹, 张新虎, 李新荣. 2006. 苹果梨叶片几种生理生化指标对梨上瘿螨为害的响应. 中国科学院大学学报, 23(4): 509–513]
- de Boer JG, Posthumus MA, Dicke M. 2004. Identification of volatiles that are used in discrimination between plants infested with prey or nonprey herbivores by a predatory mite. Journal Chemical Ecology, 30(11): 2215–2230
- Dicke M, van Beek TA, Posthumus MA, Ben Dom N, van Bokhoven H, de Groot A. 1990. Isolation and identification of volatile kairomone that affects acarine predator-prey interactions. Involvement of host plant in its production. Journal of Chemical Ecology, 16(2): 381–396
- Evaristo AB, Venzon M, Matos FS, de Freitas RG, Kuki KN, dos Santos Dias LA. 2013. Susceptibility and physiological responses of *Jatropha curcas* accessions to broad mite infestation. Experimental and Applied Acarology, 60(4): 485–496
- Grinberg M, Perl-Treves R, Palevsky E, Shomer I, Soroker V. 2005. Interaction between cucumber plants and the broad mite, *Polyphagotarsonemus latus*: from damage to defense gene expression. Entomologia Experimentalis et Applicata, 115(1): 135–144
- He Y. 2012. Resistance identification of capsicum variety against *Polyphagotarsonemus latus* and the mechanism of biochemical resistance. Master Thesis. Ya'an: Sichuan Agricultural University (in Chinese) [何叶. 2012. 辣椒品种对侧多食跗线螨的抗性鉴定及生化抗性机制研究. 硕士学位论文. 雅安: 四川农业大学]
- Hong XY. 2012. Agricultural acarology. Beijing: China Agriculture Press, pp. 205–208 (in Chinese) [洪晓月. 2012. 农业螨类学. 北京: 中国农业出版社, pp. 205–208]
- Li HS. 2000. Principle and technology of plant physiological and biochemical experiments. Beijing: Higher Education Press, pp. 201–202 (in Chinese) [李合生. 2000. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, pp. 201–202]
- Li Q, Zheng N, Yang QF, Wang HJ, Jiang CX. 2011. Relationship among the nutritional components and pubescence characteristics of pepper cultivars and their resistance to *Polyphagotarsonemus latus* (Banks). Journal of Plant Protection, 38(1): 15–19 (in Chinese) [李庆, 郑逆, 杨群芳, 王海建, 蒋春先. 2011. 辣椒品种营养成分和绒毛特征与抗侧多食跗线螨的关系. 植物保护学报, 38(1): 15–19]
- Lichtenthaler HK. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology, 148: 350–382
- Lin ZH, Chen LS, Chen RB, Zhang FZ, Jiang HX, Tang N. 2009. CO<sub>2</sub> assimilation, ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase / oxygenase, carbohydrates and photosynthetic electron transport probed by the JIP-test, of tea leaves in response to phosphorus supply. BMC Plant Biology, 9(1): 43
- Liu LF. 2011. Studies on effect of various cultivars and secondary metabolites of tea plants to tea green leafhopper feeding by DC-EPG. Master Thesis. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences (in Chinese) [刘丽芳. 2011. 茶树不同品种和次生代谢物质对叶蝉取食行为影响的DC-EPG研究. 硕士学位论文. 北京: 中国农业科学院]
- Liu YQ, Xu Z, Ling ZF, Xie K, Wu WW, Qian W. 1994. Damage of *Polyphagotarsonemus latus* to photosynthesis of tea. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 7(S): 101–104 (in Chinese) [刘奕清, 徐泽, 凌泽芳, 谢堃, 吴蔚文, 钱伟. 1994. 侧多食跗线螨为害对茶树光合作用的影响. 西南农业学报, 7(S): 101–104]
- Liu YQ, Xu Z, Zhou ZK, Xie DX, Yang XH. 1999. Morphological and biochemical parameters of tea varieties resistance to *Polyphagotarsonemus latus* Banks. Sichuan Agricultural University, 17(2): 187–191 (in Chinese) [刘奕清, 徐泽, 周正科, 谢冬祥, 杨秀和. 1999. 茶树品种抗侧多食跗线螨的形态和生化特征. 四川农业大学, 17(2): 187–191]
- Lü HP, Lin Z, Zhong QS, Wang L. 2010. Study on the chemical component of E8 fraction from Pu-erh tea. Journal of Tea Science, 30(6): 423–428 (in Chinese) [吕海鹏, 林智, 钟秋生, 王力. 2010. 普洱茶E8组分的化学成分研究. 茶叶科学, 30(6): 423–428]
- Mueller LA, Goodman CD, Silady RA, Walbot V. 2000. AN9, a petunia glutathione S-transferase required for anthocyanin sequestration, is a flavonoid-binding protein. Plant Physiology, 123(4): 1561–1570
- Qin QJ, Gao XW. 2005. Plant defense responses induced by insect herbivory. Acta Entomologica Sinica, 48(1): 125–134 (in Chinese) [秦秋菊, 高希武. 2005. 昆虫取食诱导的植物防御反应. 昆虫学报, 48(1): 125–134]
- Shimoda T. 2010. A key volatile infochemical that elicits a strong olfactory response of the predatory mite *Neoseiulus californicus*, an important natural enemy of the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. Experimental and Applied Acarology, 50(1): 9–22
- Xu Z. 2010. Studies on chemical communication effect among tri-trophic level: tea plant-*Polyphagotarsonemus latus*-*Anysitis* sp. Master Thesis. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences (in Chinese) [徐泽. 2010. 茶树—跗线螨—大赤螨间化学通讯效应研究. 硕士学位论文. 北京: 中国农业科学院]

(责任编辑:李美娟)