

杨 菲,李蓓蓓,何辰宇. 高温干旱对茶树生长和品质影响机理的研究进展[J]. 江苏农业科学,2017,45(3):10-13,40.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.03.003

高温干旱对茶树生长和品质影响机理的研究进展

杨 菲,李蓓蓓,何辰宇

(南京信息工程大学科学技术史研究院,江苏南京 210044)

摘要:茶树是我国重要的经济作物之一,对温度和水分条件都极为敏感,高温、干旱灾害严重影响茶树生长及茶叶产量和品质。本文对关于高温和干旱对茶树生长和品质影响方面的文献进行了计量分析,重点剖析了茶树受高温干旱胁迫时的生理响应,包括高温胁迫对茶树光合系统、细胞代谢、氨基酸含量、激素含量等方面的影响机理,干旱胁迫对茶树的渗透调节、激素代谢、光合作用、活性氧清除机制、茶树产量质量等方面的影响规律。未来应加强高温干旱对茶树蛋白质结构、同工酶功能、糖代谢、基因表达的生化机理,及根系活力、养分吸收、气孔发育、同化物代谢与分配等生理反应的研究,在此基础上完善茶树高温干旱的气象灾害指标、气象灾害风险评估和气象灾害预警技术,有利于增强茶树灾害预警及生产管理能力。

关键词:茶树;高温;干旱;品质;致灾机理;生理响应;生化机理;灾害预警;生产管理能力

中图分类号: S571.104;S423 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)03-0010-04

茶树[*Camellia sinensis*(L.) O. Kuntze]是我国南方最具有经济价值的特色农作物之一,其生长发育对气温和水分要求非常严格。在全球气候变暖影响下,近年来我国南方夏季极端高温、干旱等事件愈来愈频繁,发生频率显著增加,这些极端气候灾害严重影响着茶树的生长发育,致使茶树品质下降,甚至最终可能会使茶树死亡,给茶叶生产带来了巨大的影响^[1-2]。2011 年干旱使得湖南春、夏茶产量分别减少 20%~30%,经济损失约 5 亿元,2013 年盛夏罕见的高温干旱使浙江省 13.86 万 hm² 茶园遭受危害,经济损失达到 17.2 亿元^[3]。因此,探索高温干旱农业气象灾害对茶树生长和品质的影响机理近年受到茶树生产部门和研究者的高度关注。

近年来,有关高温干旱对茶树生长和品质的研究内容也从生态区划、栽培技术、气象指标扩展到茶树的致灾机理研究。在茶树高温方面,主要集中在高温胁迫对茶树叶片光合机理的影响。如通过测定室内、田间自然条件下茶树叶片净光合速率、单位叶面积光合产物等,认为高温低湿的胁迫会加剧光合作用的光抑制^[4]。将茶树遮阳网覆盖处理后测定茶树在高温干旱季节的叶片气孔导度、蒸腾速率、净光合速率,发现遮阳网覆盖茶园出现的极端高温比露天单一茶园低^[5]。随着叶绿素荧光测定和分析技术的发展,有学者揭示了高温胁迫对茶树光合作用中光系统的损伤和伤害机制^[6]。但目前关于高温对茶树伤害机制这方面的研究还很少,具有缺陷性。茶树干旱方面,相关研究主要集中于干旱胁迫对茶树生长发育、叶片的生理生化特性保护酶系统等方面的影响,这些研究为茶树旱害的防御提供了指导。

目前,关于高温干旱等气象灾害对茶树生长和品质影响机理的研究综述较为缺乏,本文搜集了该领域的研究成果进行文献计量分析,系统总结了高温胁迫对茶树光合系统、细胞代谢、氨基酸含量、激素含量等方面的影响机理,以及茶树叶片的渗透调节、激素代谢、光合作用、活性氧清除机制、产量、品质对干旱的响应规律^[7-13],为相关茶树高温干旱气象灾害防御及生产管理提供参考。

1 文献分析

1.1 数据来源与处理方法

文献主要来源于 CNKI 数据库,分别以“茶树”并含“高温”“干旱”为关键词进行检索,对检索到的文献进行内容筛选,剔除与高温干旱对茶树生长和品质影响无关的文献、新闻报道、重复的文献。利用文献计量学方法,运用 Bicom2、Ucinet 6.0 对文献的关键词、研究热点及年发文数量进行分析。

1.2 统计结果与分析

从 CNKI 数据库中共检索到关于茶树高温干旱的文献 214 篇,包括茶树抗旱品种选择、茶树逆境生理、夏季茶园管理、茶树抗旱措施等方面研究。其中,研究高温干旱对茶树生长和品质影响的论文共 124 篇,占茶树高温干旱研究的 57.9%;高温对茶树生长和品质影响的论文有 40 篇,干旱对茶树生长和品质影响的论文有 84 篇。1959—2015 年期间高温干旱对茶树生长和品质影响的论文数量呈波动变化,近 5 年来数量快速增长。高温对茶树生长和品质影响方面在 1991、1992、2005、2007、2013 这 5 年发文数量为 3~5 篇,2015 年发文数量达到 5 篇以上。干旱对茶树生长和品质影响方面,20 世纪 90 年代的发文数量比 90 年代前有所增加,并在 1992 年发文数量达到 5 篇;进入 21 世纪后,发文数量明显呈上升趋势,在 2005、2010、2012—2015 年发文数量达到了 5 篇以上(图 1)。由此可知,近几年高温干旱对茶树生长和品质影响的论文增长较为迅速。

借助 Bicom2、Ucinet6.0 软件,进一步对这 124 篇文献

收稿日期:2016-05-17

基金项目:国家自然科学基金(编号:41471156);江苏省农业气象重点实验室开放课题(编号:KYQ1405)。

作者简介:杨 菲(1991—),女,江苏南京人,硕士研究生,研究方向为农业气象科技史。E-mail:704619941@qq.com。

通信作者:李蓓蓓,博士,副教授,研究方向为气象科技史。E-mail:libeiBei@nuist.edu.cn。

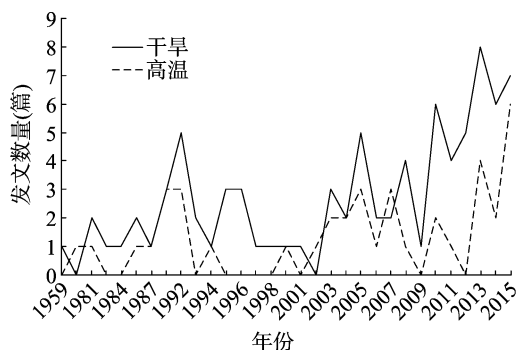


图1 1959—2015 年高温干旱对茶树生长和品质影响论文的年际分布

的关键词作分析,发现“高温干旱”“茶树生长”“茶叶产量”“茶苗”等词的周围联系比较丰富。这些词所代表的研究主题是高温对茶树生长及品质影响领域的研究重点、发展的相对比较成熟。而另一部分词如“光合日变化”“净光合速率”“生态效应”等词拥有的联系相对较少,处于图中边缘位置。因此,这些词所表征的研究主题属于我国高温对茶树生长及品质影响领域的研究薄弱点(图2)。由此可知,目前高温对茶树生长及品质影响机理方面的研究十分薄弱,尚有很大的

研究空间。“茶叶品质”“光合作用”“净光合速率”等代表的研究主题处于边缘位置,此方面的研究有待进一步加强。而茶树生长发育、干旱胁迫等代表的研究主题已发展相对成熟(图3)。通过对2幅图进行比较可知,干旱对茶树生长及品质方面的研究比高温对茶树生长及品质研究相对成熟,但在致灾机理方面的研究都比较欠缺。

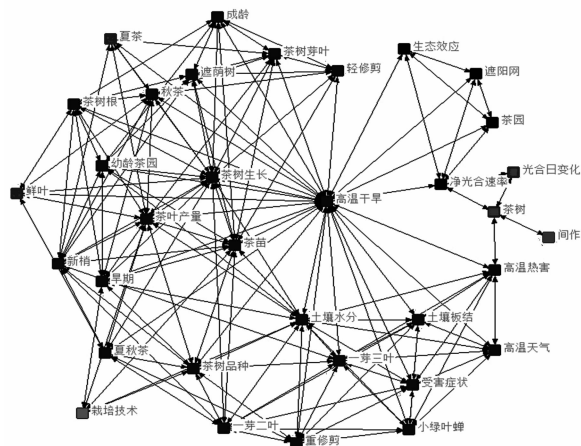


图2 高温对茶树生长及品质影响的高频关键词社群

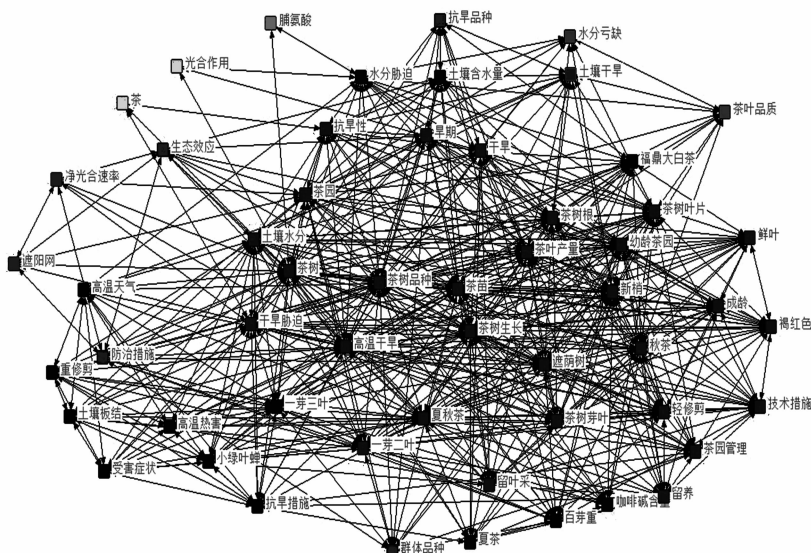


图3 干旱对茶树生长及品质影响的高频关键词社群

2 高温对茶树的影响机理

2.1 高温对茶树生长的影响机理

当日均气温为 22 ~ 23 ℃ 时,茶树生长速度最快,此后随着气温的升高,茶树的生长速度开始逐渐降低。当日最高温度高于 30 ℃ 且伴随低湿天气时,茶树的活跃生长就将停止。持续多天 35 ℃ 以上的高温低湿天气将使茶树叶片出现烧伤现象。前人研究表明,高温胁迫可从多个方面影响茶树的生理与代谢过程,抑制植株的生长和发育。随着高温的延续,植株受害程度不断加深、扩大^[14-15]。茶树受高温危害后症状为热害开始初期,树冠顶部嫩叶首先受害,但没有明显的萎蔫过程,之后叶片主脉两侧的叶肉因叶绿体遭破坏产生红变,接着有界线分明、部位不一的焦斑形成,然后叶片蛋白质凝固,由

红转褐甚至焦黑色,直至脱落。受害顺序为先嫩叶、芽梢后成叶和老叶,先蓬面表层叶片后中下部叶片^[16]。

2.1.1 高温对茶树叶片细胞代谢和细胞原生质的影响 前人研究表明,高温胁迫下,茶树幼苗叶片的总呼吸速率降低,抗氧呼吸速率升高,同时三磷酸腺苷(ATP)生成量也明显降低^[17]。在高温胁迫下,叶片呼吸作用加剧,氧化作用无法贮备净光合物质,致使能量供应减少,同时合成与酶有关的物质如维生素在高温下也有所减少,最终导致茶树机体合成代谢大大减弱,使茶树生长受阻。超过茶树忍耐限度的高温会使叶片细胞原生质因其蛋白质结构遭分解破坏而失去其原有生物学特性;因其拟脂结构遭溶化破坏,膜结构出现孔隙而失去其选择性^[18]。

2.1.2 高温对茶树叶片氨基酸及碳水化合物含量的影响 茶

树叶片中氨基酸含量随温度(35~40℃)升高略有增加,而增加量是由蛋白质和多肽在酶的催化下水解所得,之后随温度的升高,氨基酸分解加快,积累量减少,同时高温影响根系对养分的吸收,从而影响氨基酸的合成,使得氨基酸含量急剧下降。高温胁迫使细胞的游离氨基酸含量增加,引起脯氨酸积累,蛋白质发生降解^[19]。另外,高温下呼吸作用增强,可溶性碳水化合物被大量消耗,因降解量大于合成量,导致碳水化合物含量呈下降趋势。高温会抑制叶片的光合作用,叶片内可溶性糖和淀粉含量均会下降,但通过 CO₂ 加富能更大程度上促进黄瓜的光合作用,叶片可溶性糖含量和淀粉含量均显著增加^[20]。

2.1.3 高温对茶树叶片光合系统的影响 高温对光合作用的影响,一方面是通过降低叶绿素含量致使光合速率下降。叶绿素 a 和叶绿素总量随温度的升高均呈下降趋势^[21],高温加剧了叶绿素的水解并阻止叶绿素合成,同时对叶绿体膜系统的破坏也导致叶绿素减少。另一方面高温造成作物光合系统损伤,从而降低光合速率。李治鑫等利用叶绿素荧光动力学方法进行研究,发现高温使茶树叶片二磷酸核酮糖羧基酶/羧化酶(rubisco)羧化能力和核酮糖二磷酸羧化酶(RUBP)再生能力下降,严重影响光合碳同化过程的进行^[7];高温下,光系统Ⅱ光化学最大效率(F_v/F_m)明显下降,出现了严重的光抑制现象,光合系统对光的实际利用与转化能力也明显降低,导致相关酶的活性下降,从而影响光合速率^[22]。刘东煥等认为,高温通过损伤光合电子传递元件或降低暗反应相关酶活性使电子传递过程受阻,从而损伤光合系统^[23]。

2.1.4 高温对茶树中内源激素的影响 在高温胁迫下,为抵抗高温逆境,植物体内的胁迫激素如脱落酸(ABA)、水杨酸(SA)、多胺类等激素含量会有所增加,而促进植物生长的激素如吲哚乙酸(IAA)、赤霉素(GA)等激素含量则下降^[24]。ABA 含量增加能够使叶片细胞可溶性蛋白质含量增加,诱导形成生物膜系统保护酶,降低膜脂过氧化程度,从而保护膜结构的完整性,增强植物的抗氧化能力,同时也以诱导抗性基因的表达,以提高植物的抗逆能力;而 SA 则可以减轻高温对植物生长的胁迫。

2.2 高温对茶树品质的影响机理

高温天气常造成茶树的生理功能下降明显,田永辉等认为,高温下与茶树品质产量有关的生理指标如茶树的百芽重、根系活力、光合作用能力、叶绿素含量等均下降,导致茶树生长发育减退,进而影响到茶叶的生化成分,其中决定茶叶味道和香气的氨基酸因高温下的加速分解积累量减少,同时高温对根系吸收的影响作用阻碍了氨基酸的合成,从而造成其含量大量降低,而有苦涩味刺激的茶多酚、粗纤维呈上升趋势,另有咖啡碱含量升高,从而导致茶叶品质下降^[24]。

高温使芽梢发芽旺盛期及采收期延迟,茶树的新芽发芽数量明显减少,叶片寿命缩短,叶片的干物质同化和积累减少,幼芽嫩叶饱满度差,叶片变得卷曲色黄,芽尖焦脆,幼叶极易从枝上脱落。高温环境中,茶树叶片光合速率降低,呼吸消耗增加,使得干物质的积累减少。同时,持续的高温使叶片蒸腾作用加剧,但根系吸收不足弥补水分的消耗,无法维持细胞膨压,所以细胞膜系统结构受损,细胞代谢失调,从而导致茶树枯萎落叶影响茶叶产量。近年来,我国南方地区夏季极端高温、热浪等事件发生频率显著增加,如 2013 年盛夏罕见的

高温热害使浙江省茶叶生产遭受严重经济损失^[2]。

3 干旱对茶树的影响机理

3.1 干旱对茶树生长的影响机理

3.1.1 干旱对叶片细胞代谢成分的影响 在干旱胁迫下,植物细胞为使气孔运动、光合呼吸作用等生理过程正常进行而提高保护酶活性,如稳定膜结构且维持渗透平衡作用的脯氨酸含量增高^[25-26]。但关于茶树叶片的脯氨酸含量与其抗旱能力的相关性研究,目前得到的结论尚不一致。伍炳华等认为,在干旱胁迫下,茶树叶片中的脯氨酸含量并没有太大变化,即没有明显的累积现象^[10];Handique 则认为,抗旱能力强的茶树在遭受水分胁迫时叶片中的脯氨酸含量高^[27];潘根生等研究表明,在干旱胁迫下茶树叶片脯氨酸含量的积累与茶树的抗旱性相关;可溶性糖含量略有增加,维持细胞在水势下降时的膨压,从而阻止水分亏缺下的不良反应^[28]。伍炳华等研究表明,在水分亏缺时,可溶性蛋白质降解加快或合成受阻导致其含量下降,从而加快了叶片衰老^[10]。此外,有研究发现,2 年生的茶树经过水分胁迫处理 12 d 后,一些低分子量(14~26 ku)的蛋白消失^[29]。

3.1.2 干旱对活性氧清除机制的影响 在干旱胁迫下,活性氧的产生超出了植株消除的能力,破坏了生物自由基产生和消除的动态平衡,造成活性氧的积累,使膜脂过氧化作用发生,其产物丙二醛(MDA)含量增加,最终导致细胞质膜透性增加^[26],而质膜透性的变化是判断细胞是否受害及受损程度的指标。茶树叶片活性氧保护酶系统包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)的活性在干旱胁迫下均呈现出先增强后减弱的规律,且随着胁迫程度的加重增加速率缓慢,其中 SOD 有防止氧自由基破坏细胞结构和功能,从而保护细胞免受氧化损伤的作用^[13]。

3.1.3 干旱对茶树叶片光合特性的影响 光合作用是绿色植物最重要的生理反应,也是植物产量形成的基础,干旱对光合作用的抑制作用通过 2 个方面实现,其一是气孔限制,即在水分胁迫下叶片降低水势使气孔导度下降,而引起气体交换受阻,导致光合速率下降;非气孔限制是另一方面,是指因叶绿体结构遭破坏使光合色素减少或叶绿素解体引起的光合速率下降^[29]。Upadhyay 等证实,5 d 干旱处理后,茶树叶片叶绿素和类胡萝卜素显著下降^[30]。因光合色素与光能的吸收、传递和转化过程相关,所以其含量变化将直接影响植物光合能力。干旱使茶树的蒸腾速率、光饱和点显著降低,又提高了光补偿点和暗呼吸速率,致使光照度的利用范围变窄,同时对光环境的适应能力也降低。

3.1.4 干旱对基因表达的影响 干旱胁迫下,植物通过对干旱刺激信号的感知、转导和反应,为保护细胞不受水分亏缺的伤害,会诱导或抑制相关基因的表达和蛋白的合成,使植物具有在低水势情形下维持生长发育并耐脱水的能力^[31],其中表达的基因包括耐旱功能基因和起调控功能基因表达作用的耐旱调控基因^[32],合成的蛋白包括在调控基因表达过程中有重要作用的耐旱调节蛋白和参与代谢过程,如代谢酶类、渗透蛋白等的耐旱功能蛋白^[33-34]。

3.1.5 干旱对内源激素的影响 目前国内关于干旱胁迫对茶树内源激素的影响研究报道较少。潘根生等研究认为,使

茶树内源激素平衡发生改变,其中促进生长的激素减少,而抑制生长的激素增多^[34-35]。在干旱胁迫下茶树叶片 IAA、ABA 含量均增加,但其含量累积是茶树在水分胁迫下一种有限度的适应性反应,与耐旱性的关系并不密切。ABA 含量的增加有利于气孔关闭并增强根系水分透性,从而起到保水的作用。

3.2 干旱对茶树品质的影响机理

茶园土壤含水量对茶树的产量、品质均具有重要意义。70%~90% 为茶树生长所需最适宜的土壤含水量,能使根系对养分的吸收利用能力有所提高;而土壤含水量低于 50% 或高于 90%,都对根系的生长发育有抑制作用。杨跃华等研究了不同土壤水分条件下根系的生育情况及其活力的变化状况,认为在干旱条件下根系的吸收功能下降是导致产量减少的重要原因^[9];而段亮则认为,干旱通过对茶树体内水分平衡的破坏使新梢的生长受抑制,同时加速下部叶片的老化与脱落,而造成减产^[8]。在水分胁迫下,茶树叶片碳氮合成代谢会减弱,使氨基酸和蛋白质的合成遭受严重影响,干旱会促使叶片老化,使茶树新梢中茶多酚、素咖啡碱等含量显著降低,导致茶叶的品质下降^[36-37]。

4 结论及展望

通过对 1959—2015 年高温干旱对茶树生长和品质影响的文献分析得到以下几个结论:(1)1959—2015 年间,关于高温干旱对茶树生长和品质影响的文献发文量呈波动变化。进入 21 世纪后,发文数量明显呈上升趋势。研究干旱对茶树生长和品质影响的文献发文量多于高温对茶树生长和品质影响的文献。(2)从关键词统计分析来看,关于高温干旱对茶树生长和品质影响的研究主题较为广泛。“茶树生长”“茶苗”“茶叶产量”等关键词所代表的主题成为近年来研究的热点且相对有了一定的研究基础。而有关高温干旱对茶树生长和品质影响机理的研究则是薄弱点,也是未来应该多关注的方面。(3)茶树高温的研究主要集中于对茶树光合作用中一些基本指标的测定,而高温胁迫对茶树伤害机理的研究则较少,尤其是对于光合作用中光反应过程的研究。茶树干旱的研究主要集中于干旱胁迫对茶树生理指标的影响上,在茶树叶片结构、生理、生化、酶系统方面的研究较多,在干旱胁迫对茶树的光合生理方面的影响也取得了一些新的成果。

茶树在高温干旱逆境下的反应是一个极复杂的生理生化过程,许多问题有待进一步研究,未来应加强高温干旱对茶树叶片蛋白质结构、同工酶功能、糖代谢途径、基因表达的生化机理等方面的影响研究,此外也须要加强高温干旱对茶树根系活力、养分吸收、叶片气孔发育、器官的干物质积累与分配、品质的形成等生理反应的影响研究。在此基础上,完善不同茶树品种的高温干旱的气象灾害指标,研究茶树大面积高温干旱等气象灾害遥感监测技术,开展茶树气象灾害预警和风险评估业务,以提高茶叶产量和质量。

参考文献:

[1]董思言,高学杰. 长期气候变化——IPCC 第五次评估报告解读[J]. 气候变化研究进展,2014,10(1):56-59.
[2]姜燕敏,马军辉,李汉美,等. 丽水市 2013 年 7-8 月高温热害对茶叶生产的影响[J]. 中国农学通报,2014(16):158-163.

[3]林笑茹,高吟婷. 福鼎市发展茶叶生产的气象条件分析[J]. 中国茶叶,2009,31(3):24-25.
[4]罗列万. 2013 年浙江省夏季茶园高温干旱受灾情况调查评估[J]. 中国茶叶,2013(9):17.
[5]陶汉之,王镇恒. 我国茶树光合作用研究进展及发展趋势[J]. 茶叶科学,1995,15(1):1-8.
[6]肖润林,王久荣,单武雄,等. 不同遮阴水平对茶树光合环境及茶叶品质的影响[J]. 中国生态农业学报,2007,15(6):6-11.
[7]李治鑫,李鑫,范利超,等. 高温胁迫对茶树叶片光合系统的影响[J]. 茶叶科学,2015,35(5):415-422.
[8]段亮. 茶树的抗旱生理研究(之一)——水分胁迫对茶树生育的影响[J]. 茶叶科学技术,1992(1):12-15.
[9]杨跃华,庄雪岚,胡海波. 土壤水分对茶树生理机能的影响[J]. 茶叶科学,1987,7(1):23-28.
[10]伍炳华,韩文炎,姚国坤. 茶树对土壤干旱的生理反应[J]. 中国茶叶,1991(6):2-3.
[11]孙世利,骆耀平. 茶树抗旱性研究进展[J]. 浙江农业科学,2006(1):89-91.
[12]张宏一,朱志华. 植物干旱诱导蛋白研究进展[J]. 植物遗传资源学报,2004,5(3):268-270.
[13]刘声传,陈亮. 茶树耐旱机理及抗旱节水研究进展[J]. 茶叶科学,2014,34(2):111-121.
[14]胡海波,姚国坤. 茶树旱热害的发生与防止[J]. 茶叶科学,1966(2):40-46.
[15]徐应槐. 茶树冻害与旱热害的发生与防护[J]. 现代农业科技,2009(9):211.
[16]韩文炎,肖强. 2013 年夏季茶园旱热害成因及防治建议[J]. 中国茶叶,2013,35(9):18-19.
[17]国颖,杨洪强. 高温对平邑甜茶幼苗生物发光与能量代谢的影响[J]. 园艺学报,2008,35(1):99-102.
[18]陆健,刘国华. 茶叶热害机理探讨[J]. 广东茶业,1992(3):33-36.
[19]张志忠,黄碧琦,吕柳新. 蔬菜作物的高温伤害及其耐热性研究进展[J]. 福建农林大学学报(自然科学版),2002,31(2):203-207.
[20]夏永恒,崔世茂,刘杰才,等. CO₂ 富集条件下高温对温室黄瓜可溶性糖和淀粉含量的影响[J]. 内蒙古农业大学学报,2013,34(4):16-21.
[21]杨再强,李伶俐,殷剑敏,等. A 灌浆初期不同时长高温胁迫对早稻叶片光合和荧光参数的影响[J]. 中国农业气象,2014,35(1):80-84.
[22]朱静,杨再强,李永秀,等. 高温胁迫对设施番茄和黄瓜光合特性及抗氧化酶活性的影响[J]. 北方园艺,2012(1):63-68.
[23]刘东焕,赵世伟,高荣孚,等. 植物光合作用对高温的响应[J]. 植物研究,2002,22(2):205-212.
[24]岳川,曾建明,章志芳,等. 茶树中植物激素研究进展[J]. 茶叶科学,2012,32(5):382-392.
[25]田永辉,梁远发,魏杰,等. 灾害性气候对茶树的影响[J]. 贵州农业科学,2003,31(2):20-23.
[26]Yuan X K, Yang Z Q, Li Y X, et al. Effects of different levels of water stress on leaf photosynthetic characteristics and antioxidant enzyme activities of greenhouse tomato[J]. Photosynthetica, 2016, 54(1):28-39.
[27]Handique A C, Manivel L, 许宁. 抗旱茶树的选种标准[J]. 茶叶科学简报,1991(3):34-36.

叉,表明基于抗 SAL-单克隆抗体的 TRFIA 特异性良好。

2.7 SAL-TRFIA 方法的准确性

各取猪肉、猪肝、猪尿、饲料样品 3 份,分别加入高、中、低浓度的药物进行准确性试验(表 3)。由表 3 可知,TRFIA 方法测定 SAL 在猪肉、猪肝、猪尿、饲料 4 种基质中的平均加标回收率分别为 98.02%、96.03%、108.73%、106.09%,基本在 80%~120% 之间。

表 3 TRFIA 检测 SAL 在 4 种基质中的加标回收率(n=3)

样品	添加量 (ng/g)	检测量 (ng/g)	回收率 (%)	CV (%)
猪肉	0	0.11	—	—
	1	0.98±0.063	87.30	6.38
	5	4.64±0.141	90.49	3.03
	10	11.74±0.248	116.26	2.11
	平均		98.02	3.84
猪肝	0	0.32	—	—
	0.5	0.82±0.036	112.90	4.39
	1	1.22±0.079	95.72	6.50
	5	4.23±0.618	79.46	14.61
	平均		96.03	8.50
猪尿	0	0.83	—	—
	1	1.76±0.040	89.33	2.09
	5	7.02±0.460	118.98	6.61
	10	13.10±0.200	117.88	0.19
	平均		108.73	2.97
饲料	0	0.05	—	—
	1	0.96±0.220	111.23	22.82
	5	5.13±0.540	106.43	10.43
	10	11.59±0.180	100.62	1.53
	平均		106.09	11.59

3 结论与讨论

莱克多巴胺(SALbutamol,SAL)是“瘦肉精”克伦特罗的替代品,作为动物生长促长剂在畜牧生产中滥用的现象非常严重,是食品安全检测的重点监控对象。目前,莱克多巴胺检测以仪器分析方法为主,研究开发成本低廉、操作简便、检测迅速、灵敏度高的免疫分析检测技术显得尤为重要。ELISA 作为一种传统的免疫分析形式,在莱克多巴胺检测中的应用已有报道,但检测灵敏度有待提高。时间分辨免疫分析作为一种超灵敏的痕量分析手段,在莱克多巴胺检测

中未见报道。

本研究基于抗 SAL 的单克隆抗体,初步建立了检测 SAL 的高灵敏度时间分辨直接竞争免疫分析法(CD-TRFIA)。采用辛酸-硫酸铵纯化抗 SAL 杂交瘤细胞株腹水单克隆抗体,用稀土离子 Sm³⁺ 偶联物进行标记,制备钐标抗体;通过合成 SAL-SUC 半抗原并与卵清蛋白偶联获得 SAL-OVA 包被抗原;采用直接竞争的方式,游离 SAL 和固相 SAL-OVA 包被抗原共同竞争有限的钐标 SAL 单抗,初步建立 SAL 时间分辨免疫分析方法。研究发现,优化的 TRFIA 半抑制量 IC₅₀ 为 1.6 ng/mL,检测范围为 0.39~12.77 ng/mL,最低检测限为 0.136 ng/mL。对其他常用 β-兴奋剂进行交叉反应分析发现,建立的 TRFIA 方法特异选择性高,与克伦特罗的交叉率较小(2.29%),而与莱克多巴胺没有交叉。将建立的 TRFIA 方法与基于同源单克隆抗体而建立的酶联免疫分析法(ELISA)、荧光偏振免疫分析(FPIA)进行比较分析,结果表明,TRFIA 方法的灵敏度、检测性能与 ELISA 和 FPIA 方法相比有不同程度的提高。

参考文献:

[1] 谢敏浩,罗世能. 时间分辨荧光免疫分析螯合剂 BCPDA 合成[J]. 化学试剂,1994,16(6):359-360.

[2] Faeste C K, Holden L. Sensitive time-resolved fluoroimmunoassay for the detection of hazelnut protein tSALes in food matrices[J]. Journal of Immunological Methods,2006,314:114-122.

[3] 潘利华,周誓红,孙文伟,等. 固相时间分辨荧光免疫标记技术研究[J]. 光谱学与光谱分析,2004,24(12):1601-1604.

[4] 王 蕾,吴英松,汤永平,等. 应用时间分辨荧光免疫分析技术检测 SARS 病毒抗原的初步研究[J]. 第一军医大学学报,2005,25(4):429-431,434.

[5] 黄 飏,陶文沂,张莲芬,等. 赭曲霉毒素 A 的高灵敏时间分辨荧光免疫分析[J]. 生物化学与生物物理进展,2005,32(7):662-666.

[6] 黄 飏,陶文沂,张莲芬,等. 黄曲霉毒素 B₁ 的高灵敏时间分辨荧光免疫分析[J]. 核技术,2006,29(4):295-300.

[7] Shen J Z, Zhen Z Y Y. Time-resolved fluoroimmunoassay for SAL to pamine in swin tissue[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2007,387:1561-1564.

[8] 王永成,唐 棣,常文保,等. 时间分辨荧光免疫分析法间接测定雌二醇[J]. 分析科学学报,2001,17(2):89-92.

(3):210-217.

[33] 唐益苗,赵昌平,高世庆,等. 植物抗旱相关基因研究进展[J]. 麦类作物学报,2009,29(1):166-173.

[34] 潘根生,吴伯千. 水分胁迫过程中茶树新梢内源激素水平的消长及其与耐旱性的关系[J]. 中国农业科学,1996,29(5):9-15.

[35] 潘根生,钱利生,吴伯千,等. 茶树新梢生育的内源激素水平及其调控机理(第三报):干旱胁迫对茶树内源激素的影响[J]. 茶叶,2001,27(1):35-38.

[36] 卢 健,朱全武,骆耀平. 茶园旱热害及其防治与补救措施[J]. 茶叶,2013,39(3):153-155.

[37] 张小琴,周富裕,梁远发. 茶园防旱御旱措施概述[J]. 贵州茶叶,2012(4):7-10.

(上接第 13 页)

[28] 潘根生,骆耀平,钱利生. 茶树对水分的生理响应[J]. 茶叶, 1999(4):197-201.

[29] Chakraborty U, Dutta S, Chakraborty B N. Response of tea plants to water stress[J]. Biologia Plantarum,2002,45(4):557-562.

[30] Upadhyay A, Panda S K. Responses of *Camellia sinensis* to drought and rehydration[J]. Biologia Plantrum,2004,48(4):597-600.

[31] Gupta S, Bharalee R, Bhorali P, et al. Identification of drought tolerant progenies in tea by gene expression analysis[J]. Functional & Integrative Genomics,2012,12(3):543-563.

[32] Bahmdorff S, Tunnacliffe A, Wise M J, et al. Bioinformatics and protein expression analyses implicate LEA proteins in the drought response of Collembola[J]. Journal of Insect Physiology,2009,55