

白茶萎凋过程中儿茶素合成关键酶基因表达分析

陈 静, 俞 滢, 张丹丹, 陈 丹, 杨国一, 陈桂信, 叶乃兴*

(福建农林大学 园艺学院/茶学福建省高等学校重点实验室, 福州 350002)

摘要:【目的】研究白茶萎凋过程中茶多酚、儿茶素组分含量变化与其合成途径中关键酶基因的动态表达,为优化白茶的萎凋工艺提供参考依据。【方法】以不同萎凋阶段的白茶为原料,分别采用福林酚(Folin-Ciocalten)比色法和高效液相色谱法(HPLC)测定茶多酚、儿茶素组分含量的变化,并以实时荧光定量PCR检测白茶萎凋过程中与儿茶素物质代谢合成相关基因(*PAL*、*C4H*、*CHS*、*CHI*、*F3'5'H*、*F3'H*、*F3H*、*DFR*、*LAR*、*ANS*、*ANR*和*UGGT*)的相对表达量。【结果】白茶萎凋过程中茶多酚含量呈逐渐降低趋势,儿茶素组分中表儿茶素(EC)、没食子儿茶素(GC)、表没食子儿茶素(EGC)、表儿茶素没食子酸酯(ECG)含量整体上呈先上升后下降的变化趋势,且均在萎凋历时32 h出现最大值。实时荧光定量PCR检测结果表明,儿茶素生物合成途径关键酶基因*PAL*、*C4H*、*CHI*、*F3H*、*F3'H*、*F3'5'H*、*DFR*、*LAR*、*ANR*和*UGGT*均在萎凋历时32 h呈上调表达,*CHS*基因则随萎凋历时的增加呈下调表达趋势,*ANS*基因表达在整个萎凋过程中呈先上升后下降的变化趋势,在萎凋历时16 h达最大值。白茶萎凋过程中儿茶素合成途径关键基因表达水平具有调控儿茶素生物合成的作用。【结论】在白茶萎凋过程中,儿茶素生物合成途径关键酶基因*PAL*、*C4H*、*F3H*、*F3'H*、*DFR*、*LAR*、*ANR*的表达与儿茶素组分单体EC、GC、EGC的积累规律基本一致,其最大值均出现在萎凋历时32 h,因此在制茶时可适当缩短萎凋时长,以提高白茶品质。

关键词: 白茶; 萎凋; 儿茶素类; 儿茶素合成关键酶; 基因表达

中图分类号: S571.109

文献标志码: A

文章编号: 2095-1191(2016)08-1364-06

Expression of genes encoding key enzymes in biosynthesis pathways of catechins in the withering process of white tea

CHEN Jing, YU Ying, ZHANG Dan-dan, CHEN Dan, YANG Guo-yi,
CHEN Gui-xin, YE Nai-xing*

(College of Horticulture, Fujian Agriculture and Forestry University/Key Laboratory of Tea Science at Universities in Fujian, Fuzhou 350002, China)

Abstract: 【Objective】The present experiment was conducted to investigate change of contents of tea polyphenol and catechins components in withering process of white tea as well as dynamic expression of genes encoding key enzymes in their biosynthesis pathways, in order to provide theoretical basis for optimizing withering craft of white tea. 【Method】Using white tea at different stages of withering as materials, the contents of tea polyphenol and catechins components in biosynthesis pathways of catechins were determined in leaves by Folin-phenol(Folin-Ciocalten) colorimetric method and HPLC. The expression quantities of key enzymes genes (*PAL*, *C4H*, *CHS*, *CHI*, *F3'5'H*, *F3'H*, *F3H*, *DFR*, *LAR*, *ANS*, *ANR* and *UGGT*) in biosynthesis pathways of catechins was determined by real-time quantitative PCR. 【Result】The results showed that, tea polyphenol content was decreased gradually. The contents of catechins components including epicatechin(EC), gallicocatechin(GC), epigallocatechin(EGC) and epigallocatechin gallate(ECG) first decreased and then increased, reaching maximum at 32 h after withering. The results of real-time PCR showed that, the expression quantity of key genes *AL*, *C4H*, *CHI*, *F3H*, *F3'H*, *F3'5'H*, *DFR*, *LAR*, *ANR*, *UGGT* in biosynthesis pathways of catechins increased at 32 h after withering, the expression quantity of *CHS* gene decreased as duration of withering increased. The expression quantity of *ANS* gene first decreased and then increased, reaching maximum at 16 h after withering. Furthermore, the expression quantities of genes encoding key enzymes played an important role in regulating biosynthesis pathways of catechins. 【Conclusion】In withering process of white tea, the expression of key genes *PAL*, *C4H*, *F3H*, *F3'H*, *DFR*, *LAR*, *ANR* in biosynthesis pathways of catechins is consistent with the accumulation law of catechins components(EC, GC, EGC), reaching maximum at 32 h after withering. Therefore, in order to improve quality of white tea, the duration of withering should be shortened in manufacture of tea.

Key words: white tea; withering; catechins; key enzymes in biosynthesis pathways of catechins; gene expression

收稿日期: 2016-07-09

基金项目: 国家自然科学基金项目(31270735); 福建茶产业农技推广服务试点建设项目(KNJ-151001)

作者简介: * 为通讯作者, 叶乃兴(1963-), 教授, 主要从事茶树栽培育种与品质化学研究工作, E-mail: ynxtea@126.com. 陈静(1990-), 研究方向为茶叶品质化学与生物技术, E-mail: 675962081@qq.com

0 引言

【研究意义】萎凋是白茶品质形成的关键工序。在白茶萎凋过程中,多酚类物质如儿茶素类、黄酮类、黄酮醇类会发生变化,对茶叶色泽和滋味等品质因子均有一定影响(宛晓春,2003)。茶多酚是影响白茶滋味、色泽的重要组成成分,其中又以儿茶素类化合物含量最高(叶乃兴,2010)。儿茶素含量随着萎凋温湿度的不同而发生变化,其原理可能还与儿茶素生物合成途径上的调控基因有关。因此,有必要对比分析白茶加工过程中不同萎凋阶段的茶多酚总量、儿茶素组分含量变化与其合成途径中关键酶基因表达量的关系,为进一步优化白茶的萎凋工艺提供科学依据。【前人研究进展】目前,有关白茶萎凋的研究已有较多报道。尹军峰(2007)采取室内自然萎凋方式,低温冷冻干燥固相检测茶多酚与儿茶素总量动态变化,结果发现二者前期呈下降趋势,后期有所回升,即多种因素促使鲜茶叶萎凋过程主要化学成分呈现复杂的变化规律。周寒松等(2009)研究表明,在湿度70%、室温22℃下萎凋48 h,白茶的失水与其理化变化相互协调,进而形成优异的白茶品质。王芳等(2011)研究表明,室内自然萎凋过程中不同白茶品种的谷氨酸脱羧酶(GAD)活性整体变化趋势基本一致,即萎凋前期的茶叶GAD活性随谷氨酸(GLU)含量的增加而增强,催化GLU转化为 γ -氨基丁酸(GABA),但随着萎凋茶叶失水程度的增加,催化成GABA的能力下降,且GABA的降解速度大于生成速度,故其含量在萎凋中后期呈缓慢的下降趋势。陈济斌等(2012)通过研究节能日光萎凋设施及其对白茶的萎凋效果,发现变频连续萎凋机可实现日光萎凋和自然萎凋的反复交替,且效果优于自然萎凋。宋振硕等(2015)研究表明,随着萎凋程度(鲜叶减重率)的加重,尤其是在减重率超过30%以后,一芽二、三叶和中小开面二至四叶茶样在二维空间的分布渐趋离散,即不同品种茶样中游离氨基酸的组成模式愈加多样。罗玲娜等(2016)研究表明,LED光照萎凋处理能实现萎凋条件的可控性,并加快萎凋进程,对稳定茶叶的品质具有重要意义,生产上可进一步改进和推广LED光照萎凋技术。有关儿茶素合成途径中相关酶基因的研究主要集中在:茶树叶片不同生长发育时期儿茶素和多酚类的积累与多酚类生物合成途径中基因表达量的相关性(Mizutani et al.,2002),茶树生长发育期间儿茶素组分含量与酶基因表达的相关性(Singh and Christendat,2006),不同茶树品种间儿茶素合成关键酶基因的差异表达分析(马春雷等,2012)等。【本研究切入点】至今,有关儿茶素生物合成途径中酶基因相对表达量的研究主要体现在不同茶树组织上,而针对茶叶加工过程变化的研究报道甚少。【拟解决的关键问题】从茶叶生化特性和分子水平两方面对比白茶萎凋过程中茶多酚含量、组分的变化差异及儿茶素生物合成途径关键酶基因的动态表达,以期为

优化白茶的萎凋工艺提供参考依据。

1 材料与amp;方法

1.1 试验材料

供试鲜茶叶原料为福鼎大白茶秋梢一芽二叶,于2015年9月采自福建农林大学南区教学茶园。白茶萎凋工艺:室内自然萎凋温度22~25℃,空气相对湿度70%~75%,分别称取0.1000 g的鲜叶(萎凋处理0 h)和萎凋处理4、8、16、24、32、40、48 h的叶片,共8个样品,设3次重复,经液氮速冻后置-80℃冰箱保存备用。表没食子儿茶素(EGC,纯度>99%)、表儿茶素(EC,纯度>99%)、儿茶素(C,纯度>99%)、表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG,纯度>99%)、表儿茶素没食子酸酯(ECG,纯度>99%)等标准样品购自上海安谱实验科技股份有限公司;多糖多酚植物总RNA提取试剂盒购自天根生化科技(北京)有限公司;EasyScript One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis SuperMix试剂盒、TransStart Tip Green qPCR SuperMix试剂盒购自北京全式金生物技术有限公司。主要仪器设备有:Agilent1200高效液相色谱仪[安捷伦科技(中国)有限公司]、TGL-16台式高效速冷离心机(湘仪离心机仪器有限公司)和荧光定量PCR仪(美国Bio-Rad公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 茶多酚含量测定 参照GB/T 8313-2008,采用福林酚(Folin-Ciocalten)比色法进行测定,每个样品检测设3次重复,利用SPSS 19.0进行差异显著性分析与误差分析。

1.2.2 儿茶素总量及组分测定 称取0.2000 g已均匀磨碎的茶样,置于70℃预热的70%甲醇溶液(含2.0 g/L抗坏血酸)中浸提10 min,每隔5 min搅拌1次,3500 r/min离心10 min后吸取上清液,并重复以上步骤1次,合并提取液,冷却后加入70℃预热的70%甲醇溶液定容至10.0 mL,摇匀,过0.45 μ m膜(何丽梅等,2014)。然后参照Zhao等(2014)的方法进行儿茶素组分高效液相色谱法(HPLC)测定,每个样品设2次重复。

1.2.3 茶树鲜叶和萎凋叶总RNA提取及cDNA合成 根据多糖多酚植物总RNA提取试剂盒提取茶树叶片及萎凋叶的总RNA,然后参照EasyScript One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis SuperMix试剂盒说明合成cDNA第一链。

1.2.4 儿茶素类合成关键基因表达分析 根据GenBank已发表的茶树儿茶素类合成关键酶基因序列,采用Primer Premier 5.0进行实时荧光定量PCR引物设计(表1),选取 β -Actin为内参基因,按照TransStart Tip Green qPCR SuperMix试剂盒说明进行实时荧光定量PCR检测分析,再采用2^{- $\Delta\Delta$ Ct}分析各关键基因的相对表达量。每个样品检测设3次重复。

表 1 实时荧光定量PCR检测的引物序列

Tab.1 Primer sequences for real-time quantitative PCR detection

基因 Gene	上游引物 Upstream primer	下游引物 Downstream primer
PAL(苯丙氨酸脱氨酶基因)	5'-TCTGCCAAGCCGTAGATTGA-3'	5'-AACGCCCATAGTTAGAACGCG-3'
C4H(肉桂酸羧化酶基因)	5'-TAGAATGGGGCATAGCAG-3'	5'-GTAGGGGAGTTTGTAGGTGT-3'
CHS(查尔酮合成酶基因)	5'-GGCAATCAAAGAATGGGG-3'	5'-ATGGGCGAAGACCAGT-3'
CHI(查尔酮异构酶基因)	5'-CACAAAGAAGATTATGGGTGAAG-3'	5'-CAAACCTAGAAGTTGCCAAGAGT-3'
F3'5'H(黄酮-3'5'-羟化酶基因)	5'-GGCAGACTCTGGGAAGAT-3'	5'-CGGCTACAAGAATCCGACCTA-3'
F3'H(黄酮3'-羟化酶基因)	5'-ACCTTTTCGACTTCACCCATCAAC-3'	5'-TAACTGGACCATACGCAACCCTA-3'
F3H(黄酮3'-羟化酶基因)	5'-CTACTCAAGATGGCCGACAA-3'	5'-ACAACACCTCCAGCAACTTGC-3'
DFR(二羟基黄酮醇还原酶基因)	5'-ATTGGCAGAGAAAGCAGCAT-3'	5'-GTGATTAGGCTTGGTGGGAA-3'
LAR(无色花色素还原酶基因)	5'-TTTAAAGCTGCGCGAAG-3'	5'-ATGACAAGCCCGTTCCAT-3'
ANS(花青素合成酶基因)	5'-GGCCACAAGTGCCTACAATTG-3'	5'-CCCATGATTACCAAATGCA-3'
ANR(花青素还原酶基因)	5'-GCGAAGTTGATCTCTCGTC-3'	5'-AACCACATCGTCAAGTGAACA-3'
UGGT(类黄酮糖基转移酶基因)	5'-GGCAAGAAGCTAATAGGGTCGTT-3'	5'-TTGTATCATTCGGAAGTGGTGGG-3'
β-Actin(肌动蛋白基因)	5'-GCCATCTTTGATTGGAATGG-3'	5'-GGTGCCACAACCTTGATCTT-3'

2 结果与分析

2.1 白茶萎凋过程中茶多酚含量动态变化

白茶萎凋过程中,茶多酚在多酚氧化酶的作用下发生缓慢氧化,形成茶汤主要呈味成分。同时,以儿茶素为主体的多酚类化合物受多酚氧化酶和过氧化物酶的催化,生成不同层次的氧化产物,最终形成白茶灰绿色泽(叶乃兴,2010)。由图1可以看出,白茶鲜叶的茶多酚含量较高,随着萎凋历时的增加,茶多酚含量发生平缓变化,呈逐渐降低趋势,但变化幅度不明显;在茶多酚含量降低的同时,儿茶素及其氧化产物的涩味减弱、醇和感增加,白茶主要呈味物质形成。

2.2 白茶萎凋过程儿茶素组分含量动态变化

采用HPLC对白茶鲜叶、萎凋茶叶进行儿茶素组分含量测定,结果(表2)表明,在白茶萎凋过程中,儿茶素总量(TCA)随着萎凋历时的增加呈先下降后上升再下降的变化趋势,萎凋历时0、4、8、16、24、32、40、48 h的儿茶素总量分别为24.85、18.85、24.56、25.51、27.14、31.35、26.38和21.04 mg/g。就儿茶素单体而言,

非酯型儿茶素EC、GC、EGC和酯型儿茶素ECG的含量均在萎凋历时32 h达最高值,分别为3.71、2.28、0.83和3.35 mg/g,含量较低但相对稳定;EGCG较其他组分的含量高,且EGCG单体在儿茶素总量中所占比重最高。以萎凋历时32 h为例,EGCG、EC、ECG、GC、EGC和C分别占儿茶素总量的66.09%、11.83%、10.68%、7.21%、2.64%和1.21%。

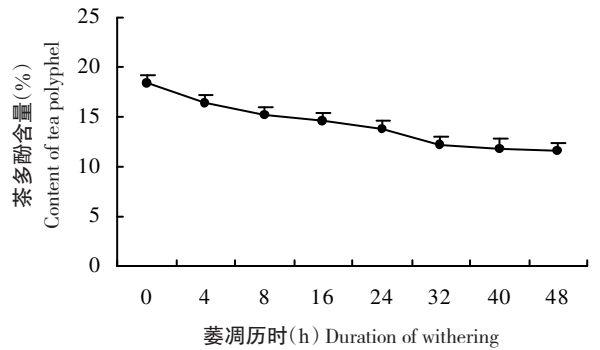


图 1 白茶萎凋过程中茶多酚含量的变化情况

Fig.1 Change of tea polyphenols in withering process of white tea

表 2 白茶萎凋过程儿茶素组分含量的变化情况 (mg/g)

Tab.2 Changes of catechins components contents in withering process of white tea(mg/g)

组分 Component	萎凋历时(h) Duration of withering							
	0	4	8	16	24	32	40	48
儿茶素 Catechin(C)	0.73	0.66	0.69	0.58	0.48	0.38	0.17	0.18
表儿茶素 Epicatechin(EC)	3.54	2.37	2.69	3.31	3.46	3.71	1.54	1.23
没食子儿茶素 Gallocatechin(GC)	1.68	1.48	1.84	2.13	1.88	2.28	1.75	1.83
表没食子儿茶素 Epigallocatechin(EGC)	0.81	0.56	0.81	0.65	0.53	0.83	0.22	0.19
表儿茶素没食子酸酯 Epicatechin gallate(ECG)	1.22	0.77	0.86	0.47	3.19	3.35	2.25	1.98
没食子儿茶素没食子酸 Gallocatechin gallate(GCG)	0.24	0.29	0.19	0.22	0.12	0.08	0.23	0.34
表没食子儿茶素没食子酸酯 Epigallocatechin gallate(EGCG)	16.63	12.72	17.48	18.15	17.48	20.72	20.22	15.29
儿茶素总量 Tea catechins aggregates(TCA)	24.85	18.85	24.56	25.51	27.14	31.35	26.38	21.04

2.3 白茶萎凋过程中儿茶素合成途径关键基因的表达量变化

采用实时荧光定量PCR检测白茶萎凋过程中与儿茶素物质代谢合成相关基因PAL、C4H、CHS、CHI、F3'5'H、F3'H、F3H、DFR、LAR、ANS、ANR和UGGT的相对表达量,从图2可以看出,各目的基因在不同萎凋历时的表达量差异明显,其中与苯丙烷途径相关的两个关键酶基因(PAL和C4H)表达变化趋势一致,表现为

先下降后上升再下降的变化趋势,且均在萎凋历时32 h的表达量最高。在催化非酯型儿茶素生物合成的酶类中,CHS基因随着萎凋历时的增加,其表达量整体上呈下降趋势;CHI基因在整个萎凋过程中呈波动式的变化趋势,萎凋历时32 h达最大值;F3'5'H基因在萎凋历时4 h的表达量与萎凋前基本持平,此后随着萎凋历时的增加,其表达量呈先下降后上升再下降的变化趋势;F3'H、F3H、DFR和LAR基因在白茶鲜叶中的表达

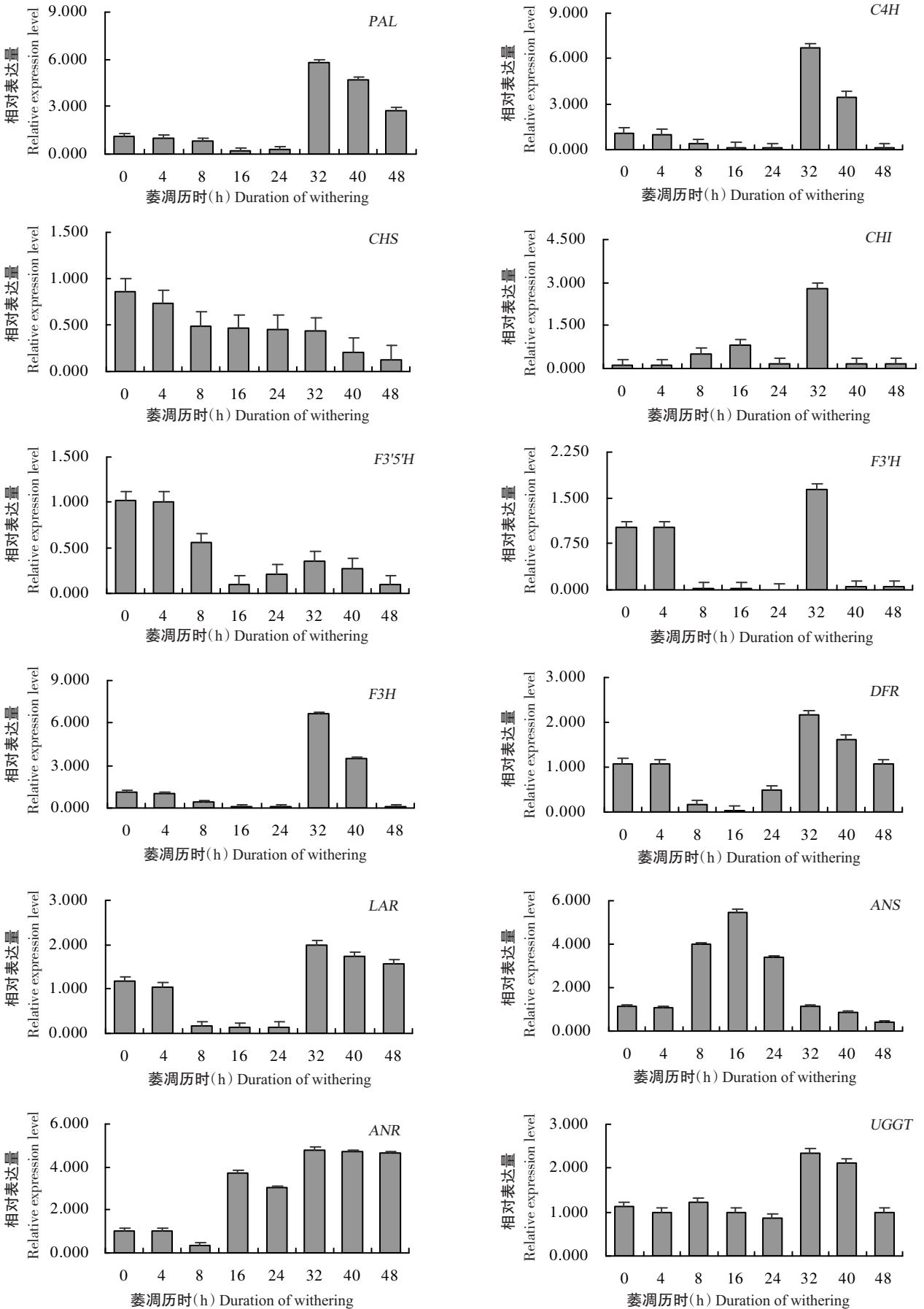


图 2 白茶萎凋过程儿茶素合成关键基因的相对表达量

Fig.2 Relative expression level of key genes in catechins biosynthesis in withering process of white tea

量并不是最高,其最大值均出现在萎凋历时32 h,而后表达量逐渐降低;ANS与ANR基因的变化趋势存在明显差异,其中,ANS基因表达在整个萎凋过程中呈先上升后下降的变化趋势,且在萎凋历时16 h达最大值;ANR基因在萎凋后期呈上调表达,在萎凋历时32 h呈现最大值。UGGT是催化酯型儿茶素合成的酶类之一,在白茶萎凋过程中,UGGT基因也在萎凋后期呈上调表达,并在萎凋历时32 h达最大值,之后缓慢下降。

2.4 白茶萎凋过程中儿茶素组分与相关基因表达量的相关性

由表3可以看出,白茶萎凋过程中儿茶素组分与相关基因表达水平的相关系数在0.142~0.992。其中,C与PAL、CHS、F3'5'H、F3'H、ANS、UGGT基因表达量极显著相关($P<0.01$,下同),与C4H、F3H、ANR基因表达量显著相关($P<0.05$,下同);EC与PAL、C4H、CHI、F3'5'H、

F3'H、ANS、ANR基因表达量极显著相关,与CHS、F3H、UGGT基因表达量显著相关;GC与PAL、C4H、CHI、F3'H、F3H、ANS、ANR、UGGT基因表达量极显著相关,与DFR、LAR基因表达量显著相关;EGC与C4H、CHS、CHI、F3'5'H、F3'H、ANS、ANR基因表达量极显著相关,与F3H、UGGT基因表达量显著相关;除F3'5'H、ANS基因外,ECG与其他基因的表达量均呈显著或极显著相关;GCG与PAL、CHS、F3'5'H、LAR基因表达量极显著相关,与F3'H、DFR基因表达量显著相关;EGCG与PAL、C4H、CHI、F3H、DFR、LAR、ANS、ANR、UGGT基因表达量极显著相关,与F3'H基因表达量显著相关;除F3'5'H基因外,总儿茶素与其他基因的表达量均呈显著或极显著相关。可见,白茶萎凋过程中儿茶素合成途径关键基因表达水平具有调控儿茶素生物合成的作用。

表3 儿茶素组分与相关基因表达量的相关性分析结果

Tab.3 Correlation analysis between catechins components and expression level of related genes

	PAL	C4H	CHS	CHI	F3'5'H	F3'H	F3H	DFR	LAR	ANS	ANR	UGGT
C	0.931**	0.753*	0.992**	0.642	0.962**	0.852**	0.792*	0.658	0.453	0.943**	0.738*	0.887**
EC	0.958**	0.971**	0.738*	0.869**	0.781**	0.839**	0.743*	0.579	0.589	0.912**	0.865**	0.734*
GC	0.869**	0.893**	0.662	0.982**	0.224	0.878**	0.872**	0.792*	0.813*	0.943**	0.966**	0.903**
EGC	0.671	0.786**	0.973**	0.843**	0.851**	0.909**	0.757*	0.611	0.674	0.892**	0.876**	0.714*
ECG	0.991**	0.991**	0.982**	0.939**	0.692	0.811*	0.987**	0.984**	0.955**	0.638	0.953**	0.969**
GCG	0.889**	0.642	0.835**	0.142	0.892**	0.829*	0.623	0.792*	0.923**	0.321	0.202	0.513
EGCG	0.965**	0.953**	0.552	0.962**	0.569	0.781*	0.941**	0.921**	0.921**	0.893**	0.964**	0.972**
TCA	0.843**	0.964**	0.721*	0.949**	0.553	0.923**	0.939**	0.958**	0.796*	0.764*	0.952**	0.921**

*表示显著相关($P<0.05$),**表示极显著相关($P<0.01$)

* represented significant correlation ($P<0.05$), ** represented extremely significant correlation ($P<0.01$)

3 讨论

3.1 白茶萎凋过程中生化成分的变化

白茶鲜叶在萎凋过程中逐渐失水,细胞生物膜透性增加,多酚氧化酶和过氧化酶活性提高,多酚类化合物缓慢氧化,其含量逐步降低。由于儿茶素的部分氧化和异构化致使其组分比例发生明显变化,这种变化有利于减轻茶汤的苦涩味,而使白茶滋味清醇(叶乃兴,2010)。本研究结果表明,白茶鲜叶在萎凋过程中逐渐失水,多酚类化合物发生缓慢氧化,非酯型儿茶素GC、EC、EGC和酯型儿茶素ECG的含量在萎凋历时32 h达最大值,分别为3.71、2.28、0.83和3.35 mg/g,含量较低但相对稳定;EGCG较其他组分的含量高,且EGCG单体在儿茶素总量中所占比重最高,与单育(2011)的研究结果一致,但儿茶素含量呈下降趋势,与其他组分变化不一致,具体原因有待进一步研究。在白茶萎凋过程中还存在呼吸作用,此时多酚类物质的氧化还原处于平衡状态,与刘谊健等(2003)的研究结果一致。

3.2 白茶萎凋过程中基因表达量的变化

PAL和C4H是苯丙烷代谢途径的关键酶类,其中,PAL是调节植物初级代谢碳流向类苯丙烷代谢途径的酶类。Singh等(2009)曾报道,茶树在受干旱、创伤、赤霉素及脱落酸处理过程中,PAL基因的表达水平与

儿茶素类化合物的积累呈正相关。本研究结果表明,PAL基因在白茶萎凋历时32 h呈上调趋势,与儿茶素类化合物积累趋势相吻合。C4H与PAL基因的变化趋势一致,即共同调控苯丙烷途径的酶基因,其积累规律可能对类黄酮途径具有影响。CHS也是茶树儿茶素类物质生成合成的关键酶之一。CHS催化合成的柚皮查耳酮,经CHI、F3H、DFR、ANS催化后生成花青素;ANR能催化花青素合成两种表儿茶素类(EC与EGC),继而合成酯型儿茶素类(ECG和EGCG)。

在白茶萎凋过程中,不同萎凋历时对茶树儿茶素生物合成途径上相关酶基因表达量的影响也不同。其中,PAL、C4H、CHI、F3'H、F3H、DFR、LAR、ANR等儿茶素生物合成相关酶基因表达量均在萎凋历时32 h达最高值。与非酯型儿茶素生物合成相关的F3'H、F3H和LAR基因表达变化趋势基本一致,但CHI和CHS基因的表达变化趋势不同,可能与其催化机制差异有关,具体原因有待进一步研究。另外,DFR、ANS、ANR基因的表达变化趋势与F3'H、F3H、LAR基因也不一致,但这3个关键酶基因的表达量相对较低,未影响到非酯型儿茶素的合成。

3.3 白茶萎凋过程中生化成分与基因表达量间的相关分析

在白茶萎凋过程中,DFR、LAR、PAL、C4H、ANR

基因的表达规律与儿茶素组分单体GC、EGC的积累规律相吻合,其原因可能是上述类黄酮合成途径的最终产物被酯化、氧化或其他的生化反应消耗,而未生成儿茶素类物质,与孙美莲(2010)的研究结果一致。其中,DFR基因的表达量与总儿茶素积累量呈显著相关,进一步说明DFR是主导儿茶素合成的重要酶类之一。ANR可催化花青素合成EC与EGC,其表达量可能对EC及EGC含量具有相关性,但EC与EGC的变化趋势不一致,可能与其不稳定性有关,因为EC可异构化生成C,EGC可异构化生成GC,且EC可经羟基化生成EGC,但具体原因有待进一步探究。

4 结论

在白茶萎凋过程中,儿茶素生物合成途径关键酶基因PAL、C4H、F3H、F3'H、DFR、LAR、ANR的表达与儿茶素组分单体EC、GC、EGC的积累规律基本一致,其最大值均出现在萎凋历时32 h,因此在制茶时可适当缩短萎凋时长,以提高白茶品质。

参考文献:

- 陈济斌,金心怡,郝志龙,江丽萍,方守龙,刘素惠. 2012. 节能日光萎凋设施及其对白茶萎凋效果研究[J]. 农业工程学报, 28(19):171-177.
- Chen J B, Jin X Y, Hao Z L, Jiang L P, Fang S L, Liu S H. 2012. Research of sunlight withering room and its withering effect on white tea[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 28(19):171-177.
- 何丽梅,郑德勇,叶乃兴,叶小辉,赵峰,杨江帆. 2014. 白茶黄酮醇类物质的HPLC测定及水解工艺优化[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 43(6):579-584.
- He L M, Zheng D Y, Ye N X, Ye X H, Zhao F, Yang J F. 2014. HPLC determination and hydrolysis process optimization of flavonol substances of white tea[J]. Journal of Fujian Agricultural and Forestry University(Natural Science Edition), 43(6):579-584.
- 刘谊健,郭玉琼,詹梓金. 2003. 白茶制作过程主要化学成分转化与品质形成探讨[J]. 福建茶叶, (4):13-14.
- Liu Y J, Guo Y Q, Zhan Z J. 2003. Transformation of main chemical component and tea quality formation during the processing period of white tea[J]. Tea in Fujian, (4):13-14.
- 罗玲娜,林永胜,周子维,郭佳星,李思偲,孙云,郭春芳. 2016. 不同LED光质萎凋对白茶品质的影响[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 45(3):262-268.
- Luo L N, Lin Y S, Zhou Z W, Guo J X, Li S C, Sun Y, Guo C F. 2016. Effect of different LED lights in withering on quality of white tea[J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University(Natural Science Edition), 45(3):262-268.
- 马春雷,姚明哲,王新超,金基强,陈亮. 2012. 茶树2个MYB转录因子基因的克隆及表达分析[J]. 林业科学, 48(3):31-37.
- Ma C L, Yao M Z, Wang X C, Jin J Q, Chen L. 2012. Cloning and expression of two MYB transcription factors in tea plant (*Camellia sinensis*)[J]. Scientia Silvae Sinicae, 48(3):31-37.
- 单育. 2011. 茶树酚类物质的生物合成及关联合成酶基因的差异表达[D]. 合肥:安徽农业大学.
- Shan Y. 2011. The biosynthesis of polyphenols and the differential expression of relative genes in tea plant [*Camellia Sinensis*(L.) O. Kuntze][D]. Hefei:Anhui Agricultural University.
- 宋振硕,王丽丽,陈键,杨军国,张应根,陈林. 2015. 茶鲜叶萎凋过程中游离氨基酸的动态变化规律[J]. 茶叶学报, 56(4):206-213.
- Song Z S, Wang L L, Chen J, Yang J G, Zhang Y G, Chen L. 2015. Changes on free amino acids in fresh tea leaves during withering[J]. Acta Tea Sinica, 56(4):206-213.
- 孙美莲. 2010. 茶儿茶素生物合成相关基因表达的实时荧光定量PCR分析[D]. 合肥:安徽农业大学.
- Sun M L. 2010. Gene expression of catechins biosynthesis in tea plant [*Camellia Sinensis*(L.) O. Kuntze] with real time fluorescence quantitative PCR[D]. Hefei:Anhui Agricultural University.
- 宛晓春. 2003. 茶叶生物化学[M]. 第3版. 北京:中国农业出版社.
- Wan X C. 2003. Tea Biochemistry[M]. The 3rd Edition. Beijing:China Agriculture Press.
- 王芳,郑德勇,杨江帆. 2011. 白茶萎凋过程中GAD和GABA形成的相关性研究[J]. 食品工业, (8):81-83.
- Wang F, Zheng D Y, Yang J F. 2011. Study on correlation between GAD and GABA during withering of white tea[J]. The Food Industry, (8):81-83.
- 叶乃兴. 2010. 白茶:科学·技术与市场[M]. 北京:中国农业出版社.
- Ye N X. 2010. Science Technology and Market of White Tea[M]. Beijing:China Agriculture Press.
- 尹军峰. 2007. 名优绿茶鲜叶摊放过程主要化学成分变化规律及环境影响的研究[D]. 杭州:浙江大学.
- Yin J F. 2007. Variation of main chemical components as well as influencing factors in fresh leaves of famous and excellent green-tea during spreading[D]. Hanzhou:Zhejiang University.
- 周寒松,潘玉华,黄先洲. 2009. 白茶人工调温调湿萎凋水分变化初探[J]. 茶叶科学技术, (3):23-25.
- Zhou H S, Pan Y H, Huang X Z. 2009. Change of moisture in the withering of white tea by artificial temperature control[J]. Tea Science and Technology, (3):23-25.
- Mizutani M, Nakanishi H, Ema J, Ma S J, Noguchi E, Inohara-Ochiai M, Fukuchi-Mizutani M, Nakao M, Sakata K. 2002. Cloning of β -primeverosidase from tea leaves, a key enzyme in tea aroma formation[J]. Plant Physiology, 130(4):2164-2176.
- Singh K, Kumar S, Rani A, Gulati A, Ahuja P S. 2009. Phenylalanine ammonia-lyase(PAL) and cinnamate 4-hydroxylase(C4H) and catechins(flavan-3-ols) accumulation in tea[J]. Functional & Integrative Genomics, 9(1):125-134.
- Singh S A, Christendat D. 2006. Structure of *Arobidopsis dehydroquinase* dehydratase-shikimate dehydrogenase and implications for metabolic channeling in the shikimate pathway[J]. Biochemistry, 45(25):7787-7796.
- Zhao F, Lin H T, Zhang S, Lin Y F, Yang J F, Ye N X. 2014. Simultaneous determination of caffeine and some selected polyphenols in Wuyi Rock Tea by high-performance liquid chromatography[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 62(13):2772-2781.