

茶凤官, 刘颖, 高峻, 等. 基于靶向代谢组学分析嫁接对茶树代谢物的影响 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(21): 45–51. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021120126

CHA Fengguan, LIU Ying, GAO Jun, et al. Analysis on the Effects of Grafting on Tea Plant Metabolites Based on Targeted Metabolomics[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(21): 45–51. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021120126

· 未来食品 ·

基于靶向代谢组学分析嫁接对茶树代谢物的影响

茶凤官^{1,2}, 刘颖¹, 高峻^{1,2,*}, 孔胜^{1,2}, 赵一明^{1,2}, 周泳臣^{1,2}, 左登鸿², 吕才有¹, 丁海琴¹, 郑文忠^{2,3}

(1. 云南农业大学茶学院, 云南昆明 650100;

2. 云南省现代农业茶叶产业体系建设栽培研究室, 云南昆明 650201;

3. 云南省普洱茶树良种场, 云南普洱 665000)

摘要: 为了探究茶树嫁接前后代谢物的差异, 以“桃形叶”为接穗、“短接白毫”为砧木, 采用切接法进行茶树嫁接。利用广泛靶向代谢组学技术对嫁接前后茶树中的物质进行检测, 并结合主成分 (PCA) 分析和正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA) 等多元统计方法, 研究嫁接前后茶树中代谢物的变化。结果表明, 嫁接前后茶样中共检测到 804 种代谢物, 其中 105 种代谢物具有显著的差异性; 与嫁接前相比, 嫁接后的茶样中有 44 种差异代谢物显著上调, 61 种差异代谢物显著下调, 差异代谢物下调的数目大于上调; 另外嫁接后的茶样中黄酮和氨基酸等物质的相对含量显著增加, 而脂质和核苷酸及其衍生物等物质的相对含量则显著减少; 此外, 通过 KEGG 代谢通路的研究发现, 这些差异代谢物主要分布在嘌呤代谢、烟酰胺和烟酰胺代谢、甘油磷脂代谢、类黄酮生物合成、黄酮和黄酮醇生物合成、光合生物的固碳作用、咖啡碱代谢、次级代谢产物的生物合成等 20 条代谢途径中, 其中被 KEGG 注释到的差异代谢物有 24 种, 主要以黄酮和核苷酸及其衍生物为主, 且通路中大部分黄酮类物质显著上调, 而核苷酸及其衍生物则显著下调。综上, 品种“桃形叶”通过嫁接会使代谢物的含量发生显著的变化, 这在一定程度上能够为嫁接茶树茶叶的加工和生产提供理论参考。

关键词: 茶树嫁接, 广靶代谢组学, 差异代谢物, 代谢通路, 切接法

中图分类号: S571.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)21-0045-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021120126

本文网刊:



Analysis on the Effects of Grafting on Tea Plant Metabolites Based on Targeted Metabolomics

CHA Fengguan^{1,2}, LIU Ying¹, GAO Jun^{1,2,*}, KONG Sheng^{1,2}, ZHAO Yiming^{1,2}, ZHOU Yongchen^{1,2},
ZUO Denghong², LÜ Caiyou¹, DING Haiqin¹, ZHENG Wenzhong^{2,3}

(1. College of Tea, Yunnan Agricultural University, Kunming 650100, China;

2. Cultivation Research Laboratory in Yunnan Modern Agricultural Tea Industry System, Kunming 650201, China;

3. Yunnan Pu'er Tea Tree Seed Farm, Puer 665000, China)

Abstract: In order to explore the difference of metabolites before and after tea tree grafting, tea tree grafting was carried out by cutting and grafting method using "Peach-shaped leaf" as the scion and "Short-grafted pekoe" as the rootstock. Substances in tea plants before and after grafting were detected by using broad-targeted metabolomics technology, and multivariate statistical methods such as principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) were used to study the difference of metabolites before and after grafting. The results

收稿日期: 2021-12-13

基金项目: 国家茶叶产业技术体系 (CARS-19); 云南省科技计划项目“双江自治县茶产业科技特派团” (202004BI090055); 云南省现代农业茶叶产业技术体系建设栽培研究室项目 (2018KJTX007)。

作者简介: 茶凤官 (1996-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 制茶工程与质量控制, E-mail: 2567092475@qq.com。

* 通信作者: 高峻 (1968-), 男, 硕士, 副教授, 研究方向: 茶树生理及良种繁育, E-mail: 1241402556@qq.com。

showed that a total of 804 metabolites were detected in tea samples before and after grafting, of which 105 metabolites were significantly different; Compared with that before grafting, 44 differential metabolites were significantly up-regulated in tea samples after grafting, and 61 differential metabolites were significantly down-regulated, and the number of differential metabolites down-regulated was greater than that up-regulated; In addition, the study on KEGG metabolic pathways revealed that these differential metabolites were mainly distributed in 20 metabolic pathways including purine metabolism, nicotinate and nicotinamide metabolism, glycerol phosphatide metabolism, flavonoid biosynthesis, flavonoid and flavonol biosynthesis, carbon sequestration by photosynthetic organisms, caffeine metabolism, and biosynthesis of secondary metabolites. Among them, there were 24 differential metabolites annotated by KEGG, which were dominated by flavone, nucleotides and their derivatives. In addition, most flavonoids in the pathways were significantly up-regulated, while nucleotides and their derivatives were significantly down-regulated. In conclusion, the content of metabolites of the variety "Peach-shaped leaf" is significantly changed after grafting, which can provide a theoretical reference for the processing and production of grafted tea leaves to a certain extent.

Key words: tea plant grafting; broad-target metabolomics; differential metabolites; metabolic pathways; cutting and grafting method

茶树是我国重要的经济作物,茶树的嫁接始于 20 世纪 70 年代^[1]。目前茶树嫁接广泛应用于老茶园及低产茶园的换种改造、野生茶树的扩种和繁殖以及良种的保存^[2]等生产实践中;同时随着良种优势在茶叶生产中逐步得到体现与发挥,低产、低效的老茶园改造已然成为当前茶产业发展中一个重要研究课题^[3]。而嫁接后的茶树因结合了接穗和砧木各自的优势,往往具有一种或多种显著的增益效果^[4-6];与此同时,嫁接后的茶树利用原有的强大根系吸收水分和矿质营养来满足接穗新梢发育的需要,所以可以比常规改植换种的茶树提早 2~3 年投产,减少老茶园改植换种的投入成本,是老茶园改造、更换新品种等行之有效的办法之一^[7]。在生产上,选择合适的砧木嫁接不仅可以增强对生物或非生物胁迫的抗性,还有助于提高产量、改良品质^[8]。

目前嫁接茶树的相关研究表明,茶树嫁接会使鲜叶中部分化合物含量发生改变;吴姝等^[9]通过 HPLS 对嫁接茶树氨基酸含量变化进行分析,结果表明,两组供试茶样中都检出 17 种游离氨基酸,其中嫁接茶树中茶氨酸含量都高于对应的接穗品种;另外梁月荣等^[10]对嫁接茶树及相应的接穗品种新梢的茶多酚、氨基酸、咖啡碱和儿茶素等生化成分含量进行比较分析,结果表明,嫁接茶树的氨基酸和咖啡碱含量高于相应的接穗品种,而茶多酚和主要儿茶素类含量低于相应的接穗品种。另外,随着检测技术的进步,代谢组学技术已经被广泛运用于茶叶研究^[11-13]。例如,马成英等^[14]利用 UHPLC-QTOF/MS 平台结合代谢组学技术研究嫁接对茶叶次生代谢产物的影响,结果表明,不同砧木嫁接会对茶树鲜叶的次生代谢产物产生明显的影响;邓威威等^[15]对茶/油茶嫁接体的次级代谢物含量进行分析发现,嫁接体叶片中的氨基酸、嘌呤碱和多酚含量比油茶叶片高,其中茶氨酸含量比油茶显著提高,咖啡碱含量比茶树叶片显著降低,嫁接体叶片中含有酚酸,而在油茶中未被检出。

近年来对茶树嫁接的研究大多都集中在嫁接技术^[16-17]、生物学特性^[18]、产量与抗逆性^[19-21]以及品

种选育^[22]等方面,对于茶树嫁接后代谢物的变化研究却很少,且缺乏系统性的研究和分析;所以本文以品种桃形叶为接穗、短接白毫为砧木进行茶树嫁接,并利用广泛靶向代谢物学技术分析嫁接前后茶树代谢物的变化。这在一定程度能够为嫁接后茶树鲜叶的加工和生产提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

实验茶样来源于云南省普洱良种场茶园,以品种桃形叶为接穗,短接白毫为砧木,采用切接法对茶树行嫁接;待嫁接成活、生长旺盛后分别采摘其嫩芽(一芽一叶)立即放入液氮中冷冻保存,且每组进行 3 次生物学重复,具体的样品名称和编号如表 1 所示。甲醇、乙腈 色谱级,Merck 公司;标准品 纯度≥95%,Bio BioPha 公司。

表 1 样品信息及编号
Table 1 Sample information and number

样品名称	处理	样品编号
B1	不嫁接	B1-1
		B1-2
		B1-3
A1	嫁接	A1-1
		A1-2
		A1-3

Scientz-100F 冷冻干燥机 宁波新芝; 5424R 离心机 艾本德中国有限公司; MM400 研磨机 德国 RETSCH 公司; UPLC SHIMADZU Nexera X2 超高压液相色谱仪 日本岛津公司; Applied Biosystems 4500 Q TRAP 质谱仪 AB SCIEX 公司; Direct-Q3 纯水仪 美国默克密理博公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品提取 将采摘回来的茶叶嫩芽放入冻干机中进行真空冷冻干燥,并将干燥后的茶样用研磨机研磨至粉状,取 100 mg 碾磨后的组织样溶解于 1.2 mL 70% 的甲醇提取液中,将溶液涡旋振荡后置于 4 ℃ 冰箱过夜,12000 r/min 离心 10 min 后,吸取上清,

用 0.22 μm 微孔滤膜过滤样品,并保存于进样瓶中,用于 UPLC-MS/MS 分析。

质控样本(QC)由样本提取物混合制备而成,用于分析样本在相同的处理方法下的重复性,在仪器分析的过程中,每 10 个检测分析样本中插入一个质控样本,以监测分析过程的重复性。

1.2.2 色谱条件 色谱柱: AgilentSB-C₁₈(1.8 μm , 2.1 mm $\times$ 100 mm); 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$; 流速: 0.35 mL/min; 进样量 4 μL ; 流动相 A: 0.1% 的甲酸, 流动相 B: 乙腈,洗脱梯度如表 2 所示。

表 2 色谱阶梯洗脱条件
Table 2 Chromatographic step elution conditions

时间(min)	流动相A(%)	流动相B(%)
0	95	5
9	5	95
10	95	5
14	95	5

1.2.3 质谱条件 ESI 源操作参数如下: 离子源, 涡轮喷雾; 源温度 550 $^{\circ}\text{C}$; 离子喷雾电压 5.5 kV; 帘气流速 25 psi; GSI 气体流速 50 psi; GSII 气体流速 60 psi; 碰撞诱导电离参数设置为高; QQQ 扫描使用 MRM 模式,并将碰撞气体设置为中等。

1.3 数据处理

基于自建数据库 MWDB 和二级谱信息进行物质定性; 通过三重四级杆筛选出每个物质的特征离子, 在检测器中获得特征离子的信号强度(CPS), 用

MultiaQuant 软件打开样本下机质谱文件, 根据代谢物保留时间与峰型的信息对色谱峰的进行积分和校正工作, 每个色谱峰的峰面积(Area)代表对应物质的相对含量, 然后导出所有色谱峰面积积分数据保存并利用(Unit Variance Scaling)进行数据的归一化处理, 最后得到数据的定性和定量结果。利用 Office 2010 和 Origin 2019 进行数据的基本处理和相关图表的绘制; 通过 R 软件中的 MetaboAnalystR 包进行多元统计分析。

2 结果与分析

2.1 样本质控(QC)分析

通过对不同质控 QC 样本质谱检测分析的总离子流(TIC)图进行重叠分析, 可以判断代谢物提取和检测的重复性, 能为数据的重复性和可靠性提供重要的保障。QC 质控样本的总离子流图如下图 1 所示, 代谢物检测总离子流的曲线重叠性高, 即保留时间和峰强度均一致, 表明样品离散少, 仪器稳定, 检测结果可靠。

2.2 主成分分析

PCA 分析(Principal Component Analysis), 即主成分分析, PCA 分析本质上是一种无监督的多元统计分析方法, 能从总体上反应各组样本之间的总体差异和组内样本之间的变异度大小; PCA 结果如图 2 所示, 第一主成分(PC1)的贡献率为 63.28%, 第二主成分(PC2)的贡献率为 10.56%, A1 和 B1 两组样品表现出明显的分离趋势, 说明嫁接前后的茶树代谢物具有较大差异。

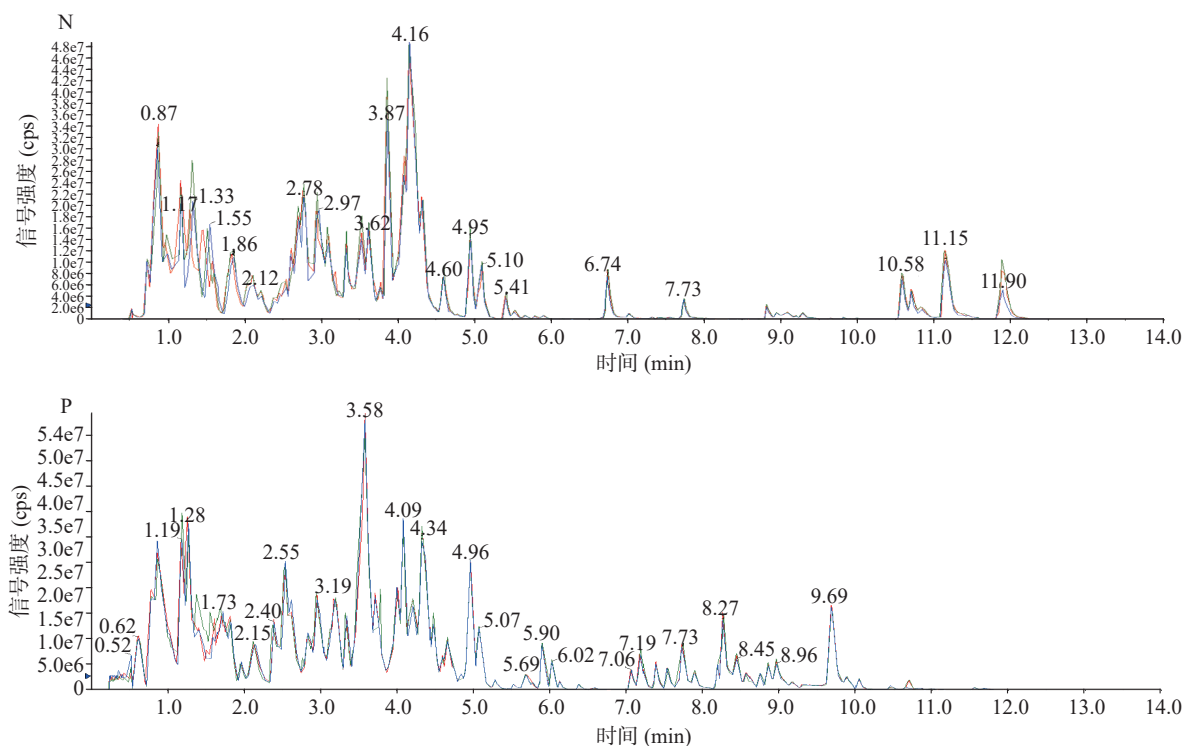


图 1 QC 样本质谱检测 TIC 重叠图

Fig.1 TIC overlap diagram of QC sample mass spectrometry detection

注: N 代表负离子模式, P 代表正离子模式。

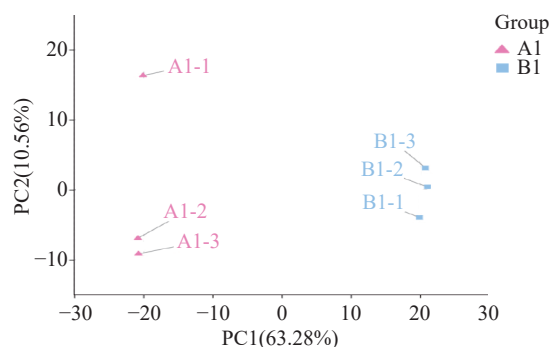


图2 样品质谱数据 PCA 得分图

Fig.2 PCA score of sample mass spectrometry data

2.3 代谢物差异分析

嫁接前后茶样中共检测到 804 种代谢物(包括正离子和负离子两种模式);为了进一步分析茶树嫁接前后代谢物的变化情况,利用偏最小二乘法判别(OPLS-DA)进行多元统计分析,同时基于 OPLS-DA 模型中的变量重要性投影(VIP)值和差异倍数(FC)值进行差异代谢物的筛选;当代代谢物同时满足 $VIP \geq 1$ 和 FC 值 ≥ 2 或 ≤ 0.5 这两个条件时,则认为该代谢物具有显著的差异性;如下图 3 所示,两组样品中共筛选出 10 类 105 种具有显著差异的代谢物;与嫁接前相比,嫁接后的茶样中有 44 种差异代谢物显著上调,61 种差异代谢物显著下调,差异代谢物下调的数目大于上调,在这些差异代谢物中占比较多的是黄酮、脂质、酚酸、其他和核苷酸及其衍生物这 5 种类别,分别占差异代谢物总数的 31%、15%、9%、9% 和 8%。在 105 种具有显著差异的代谢物中有 15 种脂质、9 种黄酮、9 种核苷酸及其衍生物、6 种鞣质、4 种酚酸、4 种生物碱、3 种有机酸、2 种氨基酸及其衍生物和 10 种其他物质在嫁接前的茶样中相对含量更高;而有 25 种黄酮、6 种酚酸、5 种氨基酸及其衍生物、4 种有机酸、1 种脂质、1 种鞣质、1 种生物碱、1 种木质素和香豆素物质在嫁接后的茶样中相对含量更高。

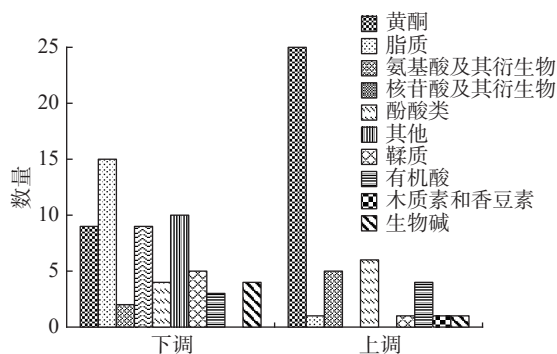


图3 A1 vs B1 差异代谢物分类图

Fig.3 A1 vs B1 differential metabolite classification map

为了更加直观地比较茶树在嫁接前后差异代谢物相对含量的变化情况,利用 R 软件包绘制了如图 4 所示的差异代谢物分类热图;结果表明,与嫁接前相比,嫁接后的茶树大部分的黄酮类物质的相对含量显

著增加,而脂质类、核苷酸及其衍生物和以糖醇类为主的其他类物质的相对含量则显著减少。

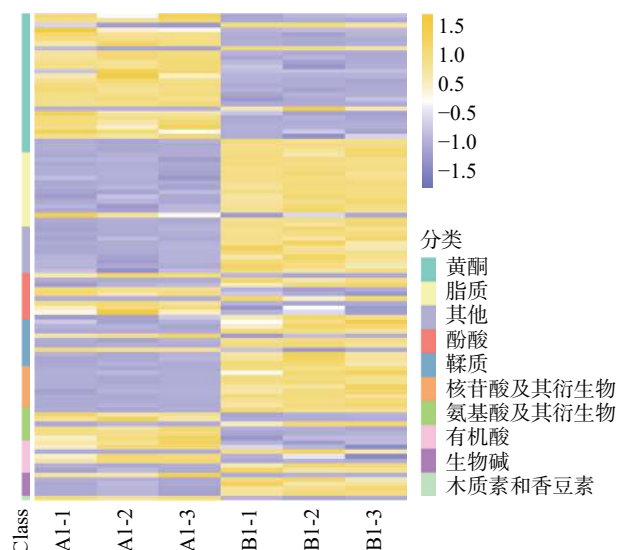


图4 差异代谢物分类热图

Fig.4 Heat map of differential metabolite classification

为了更清楚地了解茶树在嫁接前后差异代谢物差异倍数的变化情况,制作了如图 5 所示的代谢物差异倍数柱状图,并将上调和下调的差异代谢物中排名靠前的 20 位代谢物进行展示。嫁接后茶树中有 7 种黄酮(山奈酚-3-O-桑布双糖苷、山奈酚-3-O-芸香糖苷(烟花苷)、木犀草素-7-O-(2"-O-鼠李糖基)芸香糖苷、葫芦巴碱、木犀草素-6-C-葡萄糖苷-7-O-(6"-对香豆酰)葡萄糖苷、山奈酚-3-O-刺槐糖苷-7-O-鼠李糖苷(刺槐苷)、5,7,4'-三羟基异黄酮-7-O-半乳糖苷-鼠李糖、金圣草黄素-8-C-葡萄糖苷(金雀花素)), 2 种氨基酸(N- α -乙酰-L-谷氨酰胺、N-乙酰-L-亮氨酸)的相对含量要明显高于嫁接前;而有 3 种其它物质(D-果糖-1,6-二磷酸、吡哆素、1-(甘油-3-磷酸)-1D-肌醇)、2 种有机酸(2-羟基异己酸、DL-甘油醛-3-磷酸), 2 种酚酸(紫丁香苷、3,4'-二羟基-3'-甲氧基苯戊酸), 1 种黄酮(山奈酚-3-O-(2-O-木糖基-6-O-鼠李糖基)葡萄糖苷), 1 种鞣质(2,3-二-O-没食子酰-D-葡萄糖)和 1 种核苷酸及其衍生物(2-脱氧核糖-5'-磷酸)的相对含量则明显低于嫁接前。说明嫁接后代谢物中相对含量较高的是黄酮和氨基酸,而嫁接前相对含量较高的是有机酸和酚酸。

2.4 差异代谢物通路分析

利用 KEGG 数据库对差异代谢物进行通路富集分析,结果表明,共有 38 条通路,且差异代谢物主要分布在嘌呤代谢、烟酰胺和烟酰胺代谢、甘油磷脂代谢、类黄酮生物合成、黄酮和黄酮醇生物合成、光合生物的固碳作用、咖啡碱代谢、次级代谢产物的生物合成等 20 条代谢途径中,如图 6 所示。另外,在筛选出的 105 种具有显著差异的代谢物中被 KEGG 注释到的有 24 种,主要包括 7 种核苷酸及其衍生物、6 种黄酮、3 种其他、2 种氨基酸及其衍生物、2 种生

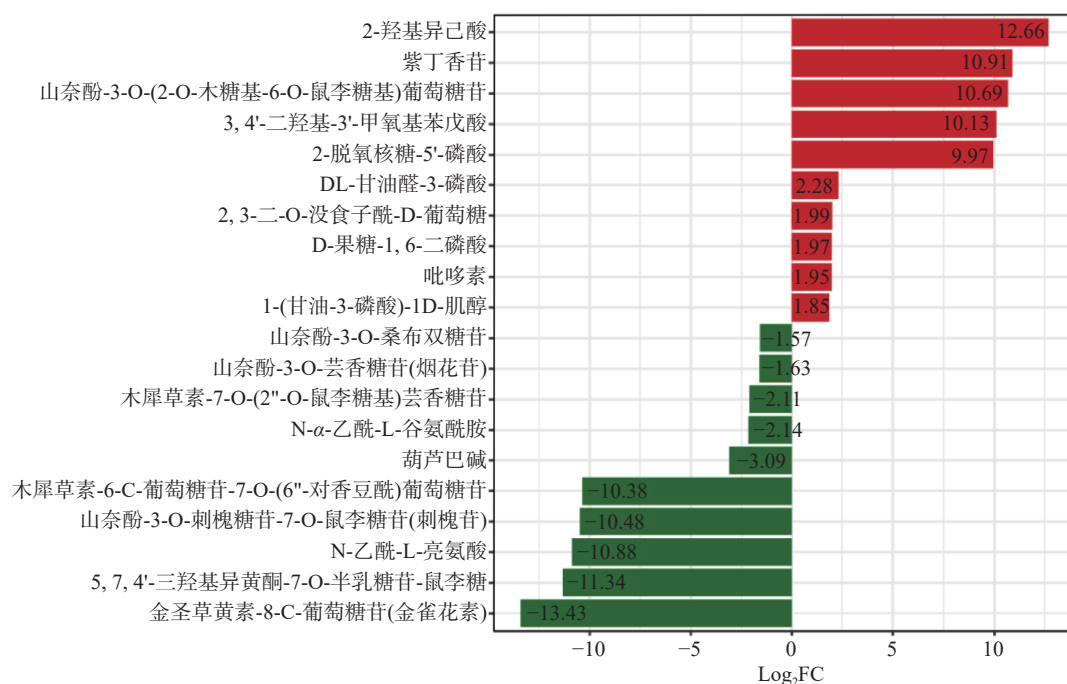


图 5 代谢物差异倍数柱状图

Fig.5 Histogram of metabolite difference multiple

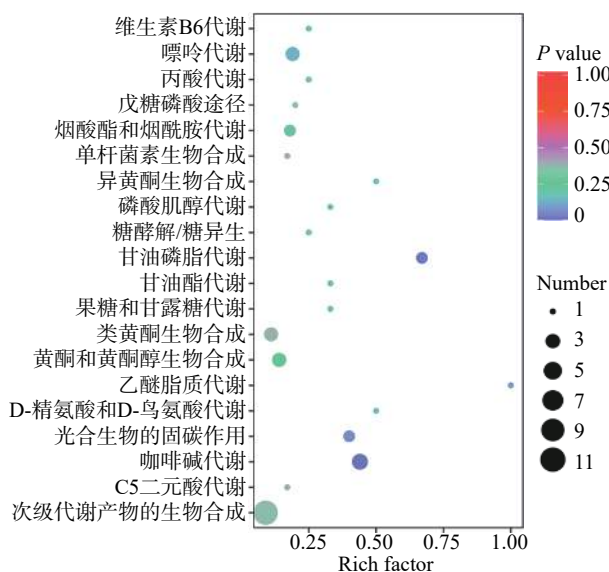


图 6 嫁接前后差异代谢物 KEGG 富集图

Fig.6 KEGG enrichment diagram of differential metabolite before and after grafting

物碱、2 种有机酸、1 种酚酸和 1 种脂质; 差异代谢物被注释最多的是黄酮和核苷酸及其衍生物这 2 种类别; 其中核苷酸及其衍生物类主要参与嘌呤代谢、次级代谢产物的生物合成和咖啡因代谢等多条代谢通路, 且被 KEGG 注释到的尿苷 5'-二磷酸、7-甲基黄嘌呤、3-甲基黄嘌呤、鸟嘌呤、黄苷、2'-脱氧肌苷-5'-单磷酸和 2-脱氧核糖-5'-磷酸这 7 种核苷酸及其衍生物均全部显著下调; 而黄酮类物质主要参与类黄酮生物合成、黄酮和黄酮醇生物合成、次级代谢产物的生物合成等多条代谢通路, 且被 KEGG 注释的 6 种黄酮中山奈酚-3-O-芸香糖苷(烟花苷)、山奈酚-3-O-鼠李糖苷(阿福豆苷)(番泻叶山奈苷)、矢车菊素-3-

O-(6"-O-对香豆酰)葡萄糖苷、根皮素和芹菜素这 5 种代谢物则显著上调, 而柚皮素-7-O-葡萄糖苷(櫻桃苷)则显著下调。

3 讨论

嫁接是茶树良种繁育最直接有效的方法之一, 通过嫁接可以最大程度地保留接穗品种的优良特性, 而茶树作为一种重要的经济作物, 其主要的价值就在茶树的鲜叶上。鲜叶质量是导致茶叶品质形成的重要因素之一, 而鲜叶质量在很大程度上是由里面的内含物质含量所决定的^[23], 所以研究茶树嫁接前后代谢物含量的变化, 能够为嫁接茶树的茶叶加工提供一定的理论参考。

通过前文的研究发现, 茶树嫁接前后代谢物具有明显的差异性, 分析代谢物的差异倍数可知, 导致差异的主要原因可能是嫁接后茶树中氨基酸和黄酮类物质大量积累, 以及酚酸和有机酸等物质的消耗。另外, 通过对 KEGG 代谢通路的分析, 发现黄酮类物质显著上调, 而核苷酸及其衍生物则显著下调; 这可能与嫁接后茶树中相关代谢通路中酶的活性或者基因的表达有关, 但目前针对茶树嫁接后代谢物的变化的研究较少, 因此, 嫁接茶树代谢物的具体变化机理还需做进一步探索。除此之外, 吴珊等^[24]研究也发现嫁接后茶树体内游离氨基酸含量有所增加, 同样王文建^[25]将铁观音嫁接到 6 个不同品种砧木上, 结果表明嫁接后的茶树中氨基酸、茶多酚和水浸出物等含量增加, 这与本文的研究结果大体一致。所以在接下来的研究中可以通过代谢组和转录组联合分析的方法, 对相关通路中的差异代谢物进行进一步的研究和分析。

4 结论

利用广靶代谢组学技术对茶树(桃形叶)嫁接前后的代谢物进行检测,两组茶样 PCA 表现出明显的分离趋势,说明茶树嫁接前后代谢物具有较大的差异。另外,嫁接前后的茶样中共筛选出 10 类 105 种具有显著差异的代谢物,这些差异代谢物中的大部分黄酮类和氨基酸及其衍生物相对含量明显增加,而脂类、核苷酸及其衍生物、酚酸类等物质的相对含量则明显减少,同时,分析代谢物的差异倍数,发现在嫁接后的茶树中相对含量较高的代谢物是黄酮和氨基酸,而嫁接前相对含量较高的代谢物是酚酸和有机酸,这些滋味物质含量的变化会对茶树鲜叶品质造成影响。此外,通过 KEGG 代谢通路分析,发现代谢物在 38 条代谢通路中富集,且大部分的差异代谢物分布在嘌呤代谢、类黄酮生物合成、次级代谢产物的生物合成等 20 条代谢途径中;与此同时,被 KEGG 注释到的大部分黄酮类物质显著上调,而核苷酸及其衍生物则显著下调。综上所述,品种桃形叶通过嫁接会使代谢物的含量发生明显的改变,这在一定程度上能够为嫁接茶树的茶叶加工、生产等提供参考。

参考文献

- [1] 杨维时. 茶树嫁接研究进展[J]. 茶叶通讯, 1985, 12(4): 21-24. [YANG Weishi. Research progress of tea grafting[J]. Tea Communication, 1985, 12(4): 21-24.]
- [2] 宁静, 刘文武, 梁国强, 等. 茶树良种嫁接技术研究[J]. 茶叶通讯, 2014, 41(3): 20-23. [NING Jing, LIU Wenwu, LIANG Guoqiang, et al. Study on grafting technology of improved tea varieties[J]. Tea Communication, 2014, 41(3): 20-23.]
- [3] 冷杨, 尚怀国, 陈勋, 等. 我国低产低效老茶园改造技术措施及工作建议[J]. 中国农技推广, 2019, 35(8): 11-13. [LENG Yang, SHANG Huaiguo, CHENG Xun, et al. Technical measures and work suggestions for the transformation of low yield and low efficiency old tea plantations in China[J]. China's Agricultural Technology Promotion, 2019, 35(8): 11-13.]
- [4] WANG J, JIANG L B, WU R L. Plant grafting: How genetic exchange promotes vascular reconnection[J]. New Phytologist, 2016, 214(1): 56-65.
- [5] HUANG Y, KONG Q S, CHEN F, et al. The history, current status and future prospects of vegetable grafting in China[J]. Acta Horticulturae, 2015, 1086: 31-39.
- [6] 何文, 潘鹤立, 潘腾飞, 等. 果树砧穗互作研究进展[J]. 园艺学报, 2017, 44(9): 1645-1657. [HE Wen, PAN Heli, PAN Tengfei, et al. Research progress of rootstock spike interaction in fruit trees[J]. Journal of Horticulture, 2017, 44(9): 1645-1657.]
- [7] 宁静, 杨阳, 梁国强, 等. 嫁接技术在茶树上的应用研究与展望[J]. 茶叶通讯, 2014, 41(1): 30-33. [NING Jing, YANG Yang, LIANG Guoqiang, et al. Application research and prospect of grafting technology in tea[J]. Tea Communication, 2014, 41(1): 30-33.]
- [8] 卢显宇, 冯伟民, 陈翌, 等. 蔬菜嫁接技术研究进展及应用[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(7): 167-169. [LU Yuyu, FENG Weimin, CHEN Gang, et al. Research progress and application of vegetable grafting technology[J]. Jiangsu Agricultural Science, 2014, 42(7): 167-169.]
- [9] 吴姗, 骆耀平. 嫁接茶树氨基酸含量变化及分析[J]. 茶叶, 2000, 26(2): 3. [WU Shan, LUO Yaoping. Changes and analysis of amino acid content in grafted tea[J]. Tea, 2000, 26(2): 3.]
- [10] 梁月荣, 陆建良, 龚淑英, 等. 嫁接对茶树新梢化学成分的影响[J]. 茶叶, 2001, 27(1): 39-40. [LIANG Yuerong, LU Jianliang, GONG Shuying, et al. Effects of grafting on chemical components of tea shoots[J]. Tea, 2001, 27(1): 39-40.]
- [11] 虞昕磊, 艾于杰, 曲凤凤, 等. 代谢组学在研究茶叶品质形成中的应用[J]. 茶叶科学, 2018, 38(1): 20-32. [YU Xinlei, AI Yujie, QU Fengfeng, et al. Metabolomics application in the study of tea quality formation[J]. Journal of Tea Science, 2018, 38(1): 20-32.]
- [12] 吴文亮, 林勇, 黄浩, 等. 代谢组学在茶叶品质与药理研究中的应用进展[J]. 中国农业科技导报, 2018, 20(10): 44-54. [WU Wenliang, LIN Yong, HUANG Hao, et al. Application progress of metabolomics in the study of tea quality and pharmacology[J]. China Agricultural Science and Technology Guide, 2018, 20(10): 44-54.]
- [13] 周琼琼, 孙威江. 代谢组学技术及其在茶叶研究中的应用[J]. 天然产物研究与开发, 2015, 27(10): 1821-1826. [ZHOU Qiongqiong, SUN Weijiang. Metabolomics technology and its application in tea research[J]. Natural Product Research and Development, 2015, 27(10): 1821-1826.]
- [14] 马成英, 吕美玲, 周珊, 等. 应用 UHPLC-QTOF/MS 平台结合代谢组学技术研究嫁接对茶叶次生代谢产物的影响[C]. 中国化学会第 30 届学术年会-第四十三分会: 质谱分析. 2016. [MA Chengying, LÜ Meiling, ZHOU Shan, et al. UHPLC-QTOF/MS platform combined with metabolomics technology was used to study the effect of grafting on secondary metabolites of tea[C]. The 30th Annual Meeting of the Chinese Chemical Society-Chapter 43: Mass Spectrometry. 2016.]
- [15] 邓威威, 范妍冰, 顾辰辰, 等. 油茶砧和茶穗嫁接后苗期叶片形态和次级代谢物含量的变化[J]. 热带亚热带植物学报, 2017, 25(1): 35-42. [DENG Weiwei, FAN Yanbing, GU Chenchen, et al. Changes of leaf morphology and secondary metabolite content of *Camellia oleifera* after rootstock and tea ear grafting at seedling stage[J]. Journal of Tropical and Subtropical Plants, 2017, 25(1): 35-42.]
- [16] 杨凤玲. 低产茶园茶树嫁接试验研究[J]. 云南农业科技, 2009(2): 6-9. [YANG Fengling. Experimental study on tea grafting in low yield tea garden[J]. Yunnan Agricultural Science and Technology, 2009(2): 6-9.]
- [17] 陶仕科, 郑新强, 梁月荣. 云南大叶种茶树老桩套袋嫁接及管理技术[J]. 茶叶, 2021, 47(3): 165-168. [TAO Shike, ZHENG Xinqiang, LIANG Yuerong. Bagging grafting and management technology of old piles of Yunnan large leaf tea[J]. Tea, 2021, 47(3): 165-168.]
- [18] 韦持章. 云南大叶茶群体种嫁接乌龙茶品种研究[D]. 南宁: 广西大学, 2012. [WEI Zhizhang. Study on grafting oolong tea varieties with Yunnan Daye tea population species[D]. Nanning: Guangxi University, 2012.]

- [19] KARUNAKARAN R, LLANGO R. Grafting influence on productivity and drought tolerance of tea clones[J]. *The Journal of Agricultural Science*, 2019, 157(3): 217–225.
- [20] TUWEI G, KAPTICH F K K, LANGAT M C, et al. Effects of grafting on tea 2. Drought tolerance[J]. *Experimental Agriculture*, 2008, 44(4): 537–546.
- [21] NAGARAJAH S, SOLOMON H R. Grafting for drought resistance in clonal tea[J]. *Tea Quarterly*, 1981, 50(4): 172–174.
- [22] 张丽芬, 刘建平. 白化茶树新品种‘景白 1 号’选育报告[J]. *茶叶*, 2018, 44(3): 125–129. [ZHANG Lifan, LIU Jianping. Breeding report of a new albino tea variety 'Jingbai 1'[J]. *Tea*, 2018, 44(3): 125–129.]
- [23] FENG L, GAO M J, HOU R Y, et al. Determination of quality constituents in the young leaves of albino tea cultivars[J]. *Food Chemistry*, 2014, 155(11): 98–104.
- [24] 吴姗, 骆耀平. 嫁接两年生茶树新梢主要生化成分的变化[J]. *茶叶*, 2001, 27(3): 5. [WU Shan, LUO Yaoping. Changes of main biochemical components in grafted two-year-old tea shoots[J]. *Tea*, 2001, 27(3): 5.]
- [25] 王文建. 不同砧木嫁接铁观音与茶叶品质关系研究初报[J]. *茶叶科学技术*, 2007(4): 6–8. [WANG Wenjian. Preliminary study on the relationship between Tieguanyin grafted on different rootstocks and tea quality[J]. *Tea Science and Technology*, 2007(4): 6–8.]