

# 环境因子对植物萜类化合物生物合成的影响研究进展

余翠翠<sup>1</sup>, 魏建和<sup>1,2\*</sup>

(1 中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所 中草药物质基础与资源利用教育部重点实验室, 濒危药材繁育国家工程实验室, 北京 100193; 2 中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所海南分所 海南省南药资源保护与开发重点实验室, 国家中医药管理局沉香可持续利用重点研究室, 海口 570311)

**摘要:** 植物在应对不同环境胁迫时会做出不同的应对措施, 其中一种常见的方式是产生次生代谢产物。萜类化合物为植物次生代谢产物中种类最多、结构最复杂的一类化合物, 几乎存在于所有植物中, 发挥着重要的生物功能, 很多具有显著的药理活性, 如免疫调节、抗肿瘤、降血脂、保肝等。该文对近年来国内外有关环境温度、紫外线辐射、光照、干旱、臭氧及植物生长发育阶段等环境因素对植物萜类化合物合成影响的研究进展进行综述, 探究植物萜类化合物受环境因子影响产生应激反应的一般性规律。

**关键词:** 植物萜类化合物; 环境因子; 生物合成

中图分类号: Q946.9; Q948.11 文献标志码: A

## Research Advance on the Effects of Environmental Factors on the Biosynthesis of Terpenoids in Plants

YU Cuicui<sup>1</sup>, WEI Jianhe<sup>1,2\*</sup>

(1 Key Laboratory of Bioactive Substances and Resources Utilization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education & National Engineering Laboratory for Breeding of Endangered Medicinal Materials, Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China; 2 Hainan Provincial Key Laboratory of Resources Conservation and Development of Southern Medicine & Key Laboratory of State Administration of Traditional Chinese Medicine for Agarwood Sustainable Utilization, Hainan Branch of the Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Haikou 570311, China)

**Abstract:** Many plant species have adapted well to the complex environment through different strategies, one of which is the production of additional secondary metabolites. Terpenoids are one kind of the most complex plant secondary metabolites, existing in almost all plants with many crucial functions. Some of them have significant pharmacological activity, such as immunoregulation, antitumor, lipid-lowering and hepatoprotective. In order to explore the fundamental rules of environmental factors on the plant terpenoids biosynthesis, this review summarizes the factors of terpenoids biosynthesis in plants in recent years, including environment temperature, ultraviolet radiation, light, water, ozone and developmental phases.

**Key words:** plant terpenoids; environmental factors; biosynthesis

收稿日期: 2019-05-12; 修改稿收到日期: 2019-09-19

基金项目: 海南省重大科技专项(ZDKJ2016004); 国家自然科学基金资助项目(81673549); 中组部“万人计划”(99950534), 国家中药材产业技术体系(CARS-21); 医科院重大协同创新项目(2016-12M-2-003)

作者简介: 余翠翠(1993-), 女, 在读博士, 研究方向为药用植物次生代谢机制研究。E-mail: 1503394785@qq.com

\* 通信作者: 魏建和, 研究员, 博士生导师, 主要从事药用植物基因资源与分子育种及次生代谢产物调控研究。E-mail: wjianh@263.net

萜类化合物(terpenoids)是植物次生代谢产物中种类最多的化合物,迄今已发现近 40 000 种<sup>[1]</sup>,以异戊二烯为基本结构单位,亦称作类异戊二烯(isoprenoids)。含有 2 个异戊二烯单位的称为单萜,含有 3 个异戊二烯单位的称为倍半萜,含有 4 个异戊二烯单位的称为二萜(图 1),以此类推<sup>[2-3]</sup>。单萜类和倍半萜类称为“低萜类化合物”,也被称为“挥发油”,多具有挥发性,几乎存在于所有植物器官,包括根、茎、叶、花、果实和种子,花中最多,且易释放出来。双萜以上的化合物称为“高萜类化合物”,一般不具有挥发性,普遍以树脂等形式存在于植物中<sup>[4-5]</sup>。萜类化合物具有重要的生理作用,如作为植物抗毒素、害虫毒素、生长调节剂、昆虫引诱剂等<sup>[6-8]</sup>。大量研究表明萜类化合物具有很强的药理活性,如紫杉醇用于治疗癌症,青蒿素用于治疗疟疾,香豆素类化合物用于治疗 HIV 等<sup>[9-10]</sup>。

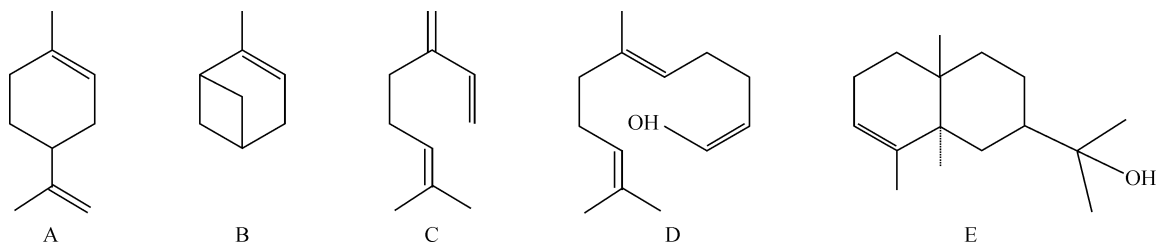
近年来,萜类化合物在化学、药品、化妆品等方面发挥着越来越重要的作用,需求量日益增加,大量文献对植物体内萜类化合物合成受环境因素影响进行了研究报道<sup>[6, 11-13]</sup>。本文基于现有文献,总结了环境温度、紫外线辐射、光照、干旱、臭氧等主要非生物环境因子和生物环境因子植物生长阶段对植物体内萜类化合物生物合成的影响,探讨了植物体内萜类成分受环境影响的规律,为促进萜类化合物的合成及其与环境之间相互作用关系提供一定理论依据。

## 1 环境温度对植物萜类化合物生物合成的影响

环境温度会影响植物光合作用和细胞中的水分分布,植物通过不同应激途径激活局部和全身组织提高自身对温度胁迫的耐受性,以此保护植株免受伤害。温度胁迫是作物生产力的关键限制因素之一,

对植物次生代谢产物合成具有显著影响<sup>[14-15]</sup>。如低温诱导下拟南芥相关转录因子发生过表达,调控次生代谢相关基因表达上调,次生代谢产物增加<sup>[16]</sup>。

环境温度升高能促进大部分挥发性萜类化合物产量和排放量呈指数增加,如异戊二烯(isoprene)<sup>[17]</sup>、单萜类(monoterpenes)<sup>[18]</sup>和倍半萜类(sesquiterpenes)<sup>[19]</sup>。当温室温度从 20 ℃增加到 46 ℃时,2 d 后开始收集气体交换数据,持续 3 周发现,生长于佛罗里达州湿地松(*Pinus elliotii*)中单萜类成分  $\alpha$ -蒎烯、 $\beta$ -蒎烯、月桂烯、柠檬烯和  $\beta$ -水芹烯均呈指数倍增加<sup>[20]</sup>。巴塞罗那自治大学温室中,二年生的地中海松(*P. halepensis*)和橡树(*Quercus ilex*),6 月至 8 月期间,当环境温度从 30 ℃升高到 40 ℃时,二种树中挥发性萜类成分浓度均上升,橡树中挥发性萜类成分从  $0.25 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$  上升到  $0.70 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ,地中海松中挥发性萜类成分从  $2\,240 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$  上升到  $15\,621 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ <sup>[21]</sup>。环境温度升高有利于增加植物体内挥发性萜类化合物含量,主要是温度升高有利于增强关键酶的活性,提高萜烯蒸气压力,且降低排放路径中的阻力<sup>[18, 22-23]</sup>。不同类型萜类化合物对温度变化做出的反应不同,低温环境有利于植物体内非挥发性萜类化合物合成。将生长于加利福尼亚薄荷(*Satureja douglasii*)放在昼夜温度分别为 25/10 ℃和 15/10 ℃的温室中生长,81 d 后检测,发现低日间温度环境下生长的植株单位叶片总单萜含量、单位叶片总单萜含量与叶片重量的比值均比高日间温度高<sup>[24]</sup>。低温环境能够促进植物体内非挥发性萜类合成途径中关键酶基因的表达。将胡黄连(*Picrorhiza scrophulariiflora*)盆栽植株移至温度为  $(25 \pm 2) \text{ }^\circ\text{C}$  的温室中,5 d 后,将其中部分盆栽植株移到另一个环境温度为  $(15 \pm 2) \text{ }^\circ\text{C}$  的温室中,12 d 后检测发现相比于 25 ℃环境中的植株,移栽到 15 ℃环境下胡黄连 3-羟基-3-甲基戊



A. 柠檬烯; B.  $\alpha$ -蒎烯; C. 月桂烯; D. 麝子油醇; E.  $\alpha$ -桉叶醇

图 1 植物中一些典型的萜类化合物

A. Limonene; B.  $\alpha$ -pinene; C. Myrcene; D. Farnesol; E.  $\alpha$ -eucalyptol

Fig. 1 Some typical terpenoids in plants

二酰辅酶 A 还原酶(*pkhgr*)和 1-脱氧-D-木糖-5-磷酸合成酶(*pkdxs*)基因表达量分别提高了 216% 和 286%,胡黄连苷含量增加了 22%<sup>[25]</sup>。植物体内萜类化合物的合成对环境温度变化敏感度很高,不仅会受到环境中持续的温度变化的影响,对环境中温度的瞬时变化也能做出快速反应。Copolovici 将生长于南美洲爱沙尼亚西红柿(*Solanum lycopersicum*)种子培育 3 周后,从小苗上取 3 片叶子分别进行高温胁迫和低温胁迫。对部分叶片进行不同程度高温胁迫,温度分别为 30、37、41、46、49 和 51 °C,对另一部分叶片进行不同程度的低温胁迫,温度分别为 6、3、-1、-7 和 -15 °C,处理时间均为 5 min。检测发现植物体内单萜类和倍半萜类化合物含量在低温胁迫和高温胁迫时均显著增加<sup>[26]</sup>。

植物体内萜类化合物的合成受环境温度影响大,敏感度高,对短期和长期的环境温度变化均能迅速调节萜类化合物合成途径,做出相应反应。不同类型的萜类化合物受环境影响不同,环境温度较高有利于挥发性萜类化合物的合成和排放,低温环境则有利于非挥发性萜类化合物的合成。从一方面解释南方环境温度较高的地方大量分布具有挥发性气味的树木,北方地区则较少见。

## 2 紫外线辐射对植物萜类化合物生物合成的影响

近年来,由于平流层臭氧的减薄导致到达地球表面紫外线辐射(UV)增强,UV 辐射对植物形态结构、生长发育、次生代谢产物的影响也越来越受到国内外高度关注与研究<sup>[27-28]</sup>。UV 辐射几乎影响所有有机机体,不同波长具有不同影响。UVB(波长 280~320 nm)能够激活植物防御系统,促进不同植物组织中次生代谢产物的产生<sup>[27]</sup>,如葡萄(*Vitis vinifera*)叶片<sup>[29-30]</sup>、葡萄浆果<sup>[31-32]</sup>。UVA(波长为 320~400 nm)、UVC(波长 200~275 nm)在植物生长、开花、次生代谢合成过程中具有重要生物调节作用<sup>[33-36]</sup>。

萜类化合物能够保护植株避免受到氧化损伤,当 UV 对植株进行处理时,植株的自我保护机制开启,萜类化合物合成含量增加。高海拔地区紫外辐射强,植物更容易受到氧化损伤,Gil 发现生长于高海拔(1 450 m,69°15'W,33°23'S)环境的葡萄相对于正常环境中的葡萄,总挥发性有机化合物排放量没有受到明显影响,但高海拔环境中葡萄浆果中的 $\alpha$ -金合欢烯、 $\beta$ -金合欢烯、瓦伦烯、 $\alpha$ -人参烯和橙花叔

醇等倍半萜含量均增加<sup>[37]</sup>。Chapman 等<sup>[38]</sup>在研究 UVB 辐射对生长于阿根廷、智利和秘鲁的山区马鞭草(*Verbena officinalis*)影响时发现,相比于生长在过滤 UVB 环境中的植株,生长在具有 UVB 辐射环境中的植株叶片单萜类化合物浓度更高。同样,Eichholz 等<sup>[39]</sup>曾报道,将没有损害的成熟葡萄摘下来,放在聚乙烯托盘中接受不同强度 UVB 照射,发现相对于没经过 UVB 处理的对照组,不同强度的 UVB 均可以增加葡萄中桉油精、芳樟醇等单萜浓度。植物的自我保护机制使植物在不同生长阶段均能对 UV 辐射作出反应,增加体内萜类化合物含量,保护植物免受 UV 胁迫造成的伤害。生长于阿根廷门多萨(900 m,68°52'W,33°3'S)的葡萄,Gil 在其转色期、收获前期、收获期 3 个不同生长时期,将一部分葡萄摘下放于试管中,另一部分葡萄仍在大田生长,两组分别进行不同强度的 UVB 处理。试管中浆果,++UVB 处理组,辐射时间 16 h,辐射强度  $0.08 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$ ,++UVB 处理组辐射时间为 16 h,光周期的最后 4 h 辐射强度为  $0.33 \text{ W} \cdot \text{m}^{-2}$ ,-UVB 组使用透明薄膜处理,吸收超过 95% 的 UVB 辐射。大田中,-UVB 组使用高密度(100  $\mu\text{m}$ )的透明薄膜,++UVB 组使用低密度(40  $\mu\text{m}$ )透明薄膜。处理发现生长在 UVB 辐射强度高环境中的葡萄,不同生长时期挥发性萜类化合物含量均较高。在试管中处理的葡萄,3 个不同成长时期,+UVB 处理组中葡萄中柠檬烯含量为 -UVB 处理组的 2 倍。田间生长的葡萄,转色期和收获前期,相对于 -UVB 组,++UVB 处理组香叶醇含量高,且葡萄中的桉叶油素是 -UVB 处理组的 3 倍<sup>[32]</sup>。

不同强度的 UV 辐射对植株造成的伤害程度不同,在长期与环境的相适应中,植株能够根据不同的 UV 辐射调节不同的合成途径使植株免受伤害。强度相对较低的 UVB 辐射诱导植物体内与膜稳定性相关的萜类化合物(如谷甾醇,豆甾醇和羽扇豆醇),以及与防御非生物(如 UVB)和生物胁迫有关的倍半萜类化合物的合成,在幼嫩的叶子中表现突出。相对较高的 UVB 辐射会诱发植物体内氧化伤害机制,促进植物体内产生具有抗氧化作用的二萜类化合物,此现象在成熟叶片中表现更加突出。Gil 等<sup>[30]</sup>研究发现高强度的 UVB 辐射促进葡萄叶片产生质体萜类化合物,植株通过 MEP 途径来抵御活性氧簇(ROS),而低强度 UVB 诱导萜类细胞质中 MAV 途径,产生与适应胁迫有关的甾醇和三萜类物质。UV 处理对植物体内萜类化合物合成产生的

影响具有持续性。对生长于印度巴纳拉斯印度大学植物园中 21 d 的黄花蒿幼苗 (*Artemisia annua*) 进行 14 d UVB ( $4.2 \text{ KJ} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ ) 和 14 d UVC ( $5.7 \text{ KJ} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1}$ ), 每天 0.5 h 处理, 再将其移栽到大田中生长, 发现相对于未经过辐射处理的植物, UV 处理不仅会改变植物生长反应、生物量、色素含量和抗氧化酶活性, 而且会促进植物各生长阶段次生代谢产物合成(青蒿素和黄酮), UVB 和 UVC 预处理使各个阶段青蒿素含量均增加, 盛花期青蒿素含量相对于对照组分别提高 10.5% 和 15.7%。在 UVC 处理组, 花期黄花蒿体内 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶(HMGR)、紫穗槐-4、二烯合成酶(ADS)、细胞色素 P450 (CPR) 和细胞色素 P450 氧化还原酶(CYP450) 基因表达量分别升高 4.4、3.2、2.2 和 1.9 倍, 在 UVB 处理组, 花期黄花蒿体内香叶即吡咯烷合酶(GPPS)、HMGR、ADS 和 CPR 转录表达水平分别升高 2.8、2.76、2.5 和 1.5 倍<sup>[40]</sup>。

但 Llusia 等<sup>[41]</sup> 研究 UV 辐射对植物萜类化合物合成影响时得到了不同的结果, 将西班牙赫罗纳大学温室中 4 种地中海植物, 亚麻叶瑞香 (*Daphne gnidium*), 洋乳香树 (*Pistacia lentiscus*), 枸骨叶冬青 (*Ilex aquifolium*) 和月桂树 (*Laurus nobilis*) 分别放在没有 UV 辐射, 有 UVA 辐射或具有 UVA+UVB 辐射环境中生长, 处理时间为 7 月份到 9 月份。持续检测发现, 在 UVA+UVB 辐射环境下的亚麻叶瑞香具有最高萜类排放速率, 9 月份月桂树在 UVA+UVB 辐射环境中萜类排放速率最高, 7 月份和 9 月份时洋乳香树在 UVB 和 UVA 辐射环境中萜类排放率均降低, 而 UV 处理对枸骨叶冬青的总萜烯排放率无显著影响。同样, Turtola 等<sup>[42]</sup> 发现将实验环境中 UVB 辐射强度增强 30%, 苏格兰松和欧洲云杉幼苗分别在该环境中生长 2 年和 3 年, 增加 UVB 辐射强度并不影响 2 种树幼苗的生长, 且 2 种树中针叶和树干中的萜类和黄酮类化合物均没有受到 UVB 处理的影响。造成结果的不同可能是由于实验材料的物种不同, 不同物种处理 UV 胁迫方式各异, 如植物体内酚类化合物在保护植物免受紫外线辐射方面同样起重要作用<sup>[43-44]</sup>, 实验材料体内可能已经有足够酚类化合物, 不需要合成更多萜类化合物, 且植物可能以其他方式应对环境中 UVB 辐射, 如增加叶片厚度等。

### 3 光照对植物萜类化合物生物合成的影响

光是调节植物生命活动重要环境因子之一, 不

仅是植物生长发育的能量来源, 且作为信号因子调控植物生长发育, 光周期、光照对植物次生代谢产物的合成和积累均具有重要作用。

延长光周期可以增加植物光合作用时间, 促进萜类化合物合成。Martins 等<sup>[25]</sup> 研究了光周期等因素对生长于巴西阿尔费纳斯山香 (*Hyptis suaveolens*) 中芳香萜类成分的影响。将一部分植物放置在正常光周期中生长, 另一部分放置于通过 40 W 发光灯将光周期延长 4 h 的长光周期环境中生长。于 60 d、130 d 分别采集样品, 检测芳香萜类成分含量变化。结果发现延长光周期能够增加精油中的各萜类化合物成分。

光照的有无直接影响植物光合作用是否能够正常进行, 影响萜类合成。宋建强等<sup>[45]</sup> 研究澳洲塔斯马尼亚北部地区光照对葡萄浆果中萜类化合物的影响时, 将葡萄分为三组, 第一组将葡萄果实基叶去除, 使其直接接受光照; 第二组使用聚碳酸酯板阻挡阳光对葡萄照射, 对葡萄进行遮荫处理; 第三组葡萄不做处理, 正常接受光照。4 个月后发现, 相对于遮荫处理组, 接受直接光照和正常接受光照组的葡萄果实中的香茅醇, 橙花醇含量更高。光照能够提高与植物萜类化合物的合成相关合成基因的表达量。将生长于印度帕拉姆普尔地区 (4 000 m,  $32^{\circ}23'N$ ,  $77^{\circ}15'E$ ) 胡黄连进行离体组织培养, 4 周后将植株分别放于黑暗和光照环境中进行培养。6 d 后检测发现在光照条件下, 胡黄连的 *pkhmgr* 和 *pkdxs* 酶表达量相对于黑暗环境中分别增加 70% 和 112%, 苦苣含量升高 163%。作者认为光照对苦苣生物合成途径中 *pkhmgr* 和 *pkdxs* 的上调可能增加了碳向萜类代谢途径分配, 从而最终导致胡黄连中苦苣含量增加<sup>[46]</sup>。

萜类化合物合成对环境中光照变化具有很高的敏感度, 黑暗环境抑制植物萜类化合物合成, 一旦恢复光照, 代谢途径能够很快恢复正常状态。将加了含有 8 个氨基酸残基的免疫抗原连接到生长于美国阿肯色大学土豆 (*Solanum tuberosum*) 同类型的 HMGR 中, 在转基因植物中表达新蛋白 HMGR-FLAG。将植株于黑暗环境中放置 2 h, HMGR 水平急剧下降, 黑暗中放置 6 h 后, HMGR-FLAG 蛋白水平约是正常植物的一半, 将其重新放回灯光环境后蛋白水平很快恢复了, 在黑暗环境中放置 20 h, 几乎没有 HMGR-FLAG 产生, 但当植物重新回到光照条件下, 蛋白水平很快恢复<sup>[47]</sup>。

## 4 干旱对植物萜类化合物生物合成的影响

水分是影响植物生长的主要非生物因素之一,干旱可导致植物受到渗透胁迫和氧化胁迫,对植物次生代谢产物合成具有显著影响<sup>[48-49]</sup>。很多报道表明,干旱胁迫有利于促进植物体内萜类化合物合成,如地中海常绿冬青栎<sup>[50-51]</sup>、云杉(*P. asperata*)<sup>[52]</sup>、迷迭香(*Rosmarinus officinalis* L.)和薄荷(*Mentha haplocalyx*)<sup>[53]</sup>。适度干旱能够促进植物萜类化合物含量上升<sup>[51, 54-55]</sup>,但胁迫过重时萜类化合物浓度反而会下降<sup>[56-57]</sup>。

干旱环境会导致植物产生氧化应激反应,植株通过调节多种代谢途径,如刺激类胡萝卜素、玉米黄质和挥发性有机化合物(如单萜类)的产生,从而抵御干旱,减少由于氧化应激造成的植物伤害。Savoi等<sup>[58]</sup>研究干旱对葡萄浆果次生代谢影响,葡萄生长于意大利乌迪内大学(46°01'52.3"N 13°13'30.6"E)。将实验分为二组,一组为正常浇灌葡萄园组,另一组为从浆果早期到成熟期持续干旱的非浇灌葡萄园组。结果发现,干旱组浆果中苯丙烷类、单萜烯类化合物浓度均升高,16种萜类化合物相关结构基因均受到干旱调控。当植物长期处于干旱胁迫,植物体内萜类化合物合成将受到影响。将生长于巴塞罗那自治大学中二年龄的苏格兰松和三年龄的挪威云杉幼苗分为三组,第一组为正常浇水的对照组,第二组为中度干旱组,第三组为重度干旱组,每组40株苗。苏格兰松的对照组、中度干旱组和重度干旱组土壤含水量分别为26%、19%和9%,挪威云杉对照组、中度干旱组和重度干旱组土壤含水量分别为27%、18%和9%,2种树在不同环境中生长2年。检测发现相对于对照组,第一年不同程度的干旱胁迫均不影响幼苗生长,但在第二年,不同程度干旱胁迫均使植物地上部分生长缓慢,但增加了2种树树干中单萜化合物含量,且重度干旱胁迫促进作用更为显著。相对于对照组,重度干旱环境中苏格兰松和挪威云杉总单萜成分增加量分别为39%、35%<sup>[55]</sup>。植物非挥发性萜类化合物对周围短期干旱环境也能快速做出应答。对地中海松和冬青栎进行降低1/3水分干旱处理,1.5m后发现干旱处理能够显著提高2种植物总萜类浓度,分别达54%和119%<sup>[21]</sup>。

植物不同类型萜类化合物的化学性能和生物功效不同,受到干旱胁迫时做出的反应也不同。将生

长于法国普罗旺斯大学生态与环境研究所的迷迭香、地中海松、微白岩蔷薇(*Cistus albidus*)和铁橡栎(*Q. cocciiferoides*)4种植物栽种于以天然钙质为基质的花盆中,放置于自然环境,第1天对其进行正常浇灌,作为对照组,后面11d则处于缺水状态,期间持续检测植物萜类化合物排放情况,发现缺水状态下迷迭香和铁橡栎单萜类化合物排放量与对照组植株相似,地中海松和微白岩蔷薇单萜类化合物排放量比对照组高,但4种植物中倍半萜类化合物排放量均降低。干旱影响单萜类化合物排放而对倍半萜类化合物无影响,作者解释认为植物中的单萜类化合物可能具有保护植物免受干旱胁迫危害作用,而倍半萜类化合物无此功能<sup>[59]</sup>。植物不同组织中萜类化合物受到干旱胁迫时做出反应不相同。对生长于德国比勒费尔德(51°58.975'N, 8°27.092'E)的菊蒿(*Tanacetum vulgare*)进行不同程度的干旱处理,低灌溉量组每隔1d将盆栽重量调整到灌溉组植物土壤盆栽重量的60%。灌溉组每天浇水至土壤含水量完全饱和。12d后发现,干旱胁迫轻微降低菊蒿叶片中萜类化合物浓度,但显著促进根中萜类化合物浓度。作者解释为根系中的萜类化合物可能在植物受到伤害时起到防御作用,也可能通过根系分泌物排放到土壤中防御生物胁迫<sup>[60]</sup>。

植物能对环境中的长期、短期干旱胁迫均能做出迅速应答,调节体内萜类化合物合成,抵御干旱,减少由于氧化应激对植物造成的伤害。不同类型的萜类化合物、植物不同组织由于化学性质及在植物体内的功能不同,在干旱胁迫环境中会做出不同反应。

## 5 臭氧对植物萜类化合物生物合成的影响

空气中的臭氧浓度升高会对植物造成损伤,研究表明,萜烯类化合物可以减少植物受到臭氧和活性氧(ROS)带来的氧化损害<sup>[61-63]</sup>。

植物暴露于急性和高浓度臭氧环境中时,植物会做出迅速显著反应<sup>[64-66]</sup>。臭氧通过增加植物中异戊二烯合成酶(ISPS)mRNA的表达,提高蛋白量和酶的活性从而提高植物中异戊二烯的释放量。Fares等<sup>[64]</sup>研究臭氧对生长于意大利罗马银白杨(*Populus alba*)的直接和间接作用,将植物下部分叶子暴露在臭氧环境中(150  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,每天11h),上部叶子暴露在空气中,30d后对叶片气体交换和组织解剖参数进行测定,了解臭氧是否能够间接影

响叶片的解剖和生理结构。结果表明与对照组中相同发育阶段的叶片相比,植物上部分暴露在空气中的叶片的解剖学和形态学受到臭氧的显著影响,异戊二烯排放量更高,异戊二烯合成酶 mRNA 表达量更多。植株下半部分直接接触到臭氧的异戊二烯排放量受到抑制。植株下半部分在臭氧环境中新生长的叶片,与对照组相同发育阶段叶片相比异戊二烯排放量轻微增加。同样,将长势相同的生长于意大利比萨大学的草木犀(*Melilotus officinalis*)嫩芽置于有 MS 培养基的试管中培养,生长箱温度为 $(22 \pm 1)^\circ\text{C}$ ,光照周期为 16 h,处理组植株在浓度为 $200 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的臭氧环境中放置 3 h,之后移到没有臭氧的环境生长。在嫩枝接触臭氧的 0、1、3 h 及恢复期 3 h 后采集样品。对照组生长在用木炭过滤空气的培养箱中。结果表明臭氧处理改变单一化合物排放量,没有显著改变植物挥发性成分中总单萜和总倍半萜含量。经过臭氧处理 1 h 和 3 h 后,含氧单萜分别增加 7.1% 和 7.6%<sup>[67]</sup>。

当植物暴露于低、中度或长期的臭氧环境中时,便不存在这种促进易挥发性萜烯途径的诱导,而异戊二烯合成酶(ISPS)mRNA 的表达和 ISPS 蛋白的水平甚至可能降低<sup>[68-69]</sup>。生长于加利福尼亚的美洲黑杨(*P. deltoides*)、毛果杨(*P. trichocarpa*)分别为耐臭氧和臭氧敏感型杨树。将 2 种基因类型的杨树暴露于臭氧环境中,连续 8 d,每天 6 h 使用 $120 \text{nL} \cdot \text{L}^{-1}$ 臭氧熏。臭氧熏过程中测定叶片中异戊二烯的排放速率,臭氧吸收和生理生化指标,8 d 后检测 2 种类型树的生理生化指标。结果表明在臭氧熏过程中和过后 2 种基因型树的异戊二烯排放率、生理反应和臭氧吸收率均相似,无显著差异<sup>[70]</sup>。将臭氧浓度提高到温室环境中臭氧浓度的 1.5 倍,达 $9.54 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ,30 d 后检测表明随臭氧含量增加,降低了白杨树叶中 ISPS(异戊二烯合成酶)mRNA 和 ISPS 蛋白含量,导致异戊二烯排放量降低<sup>[68]</sup>。

## 6 发育阶段对植物萜类化合物生物合成的影响

植物生长发育阶段也会对萜类化合物的合成产生重大影响。植物具有多种萜烯化合物,这些化合物可能由不同生物途径合成产生,其差异表达受到发育和应激反应进行调节<sup>[71]</sup>。

Keivan 检测生长于伊朗伊斯兰阿萨德大学的香蜂花(*Melissa officinalis*)花期前、花期、花期后

3 个不同阶段精油含量。结果发现花期前检测到 37 种化合物,主要是十二烯醛(29.38%)和香叶醇(25.3%),花期阶段检测到 36 种化合物,主要为十二烯醛(28.04%)和香叶醇(24.97%),花期后 16 种化合物被检测到,主要为维罗尔(37.62%)和香茅酸甲酯(32.34%)<sup>[72]</sup>。Grevsen 等<sup>[73]</sup>检测生长于美国麻省大学( $9^\circ 50' \text{E}$ ,  $55^\circ 43' \text{N}$ )牛至(*Origanum vulgare*)2 年中的 5 个不同生长发育阶段中萜类化合物含量的变化。结果表明在不同发育阶段均能检测到挥发性萜类化合物(香芹酚,  $\gamma$ -松油烯,月桂烯,  $\alpha$ -蒎烯,  $\beta$ -石竹烯,百里香酚)。但含量从第一年 3.7%~4.9%到第二年 2.6%~4.6%;盛花期时挥发性萜类化合物总产量从第一年 $74 \sim 165 \text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 到第二年 $31 \sim 79 \text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 。作者表明发育阶段对萜类化合物的成分和含量均具有显著影响。同样,在同一发育时期的不同生长阶段,百里香(*Thymus vulgari*)和牛至精油的含量和成分具有显著差异,白柠檬(*Lippia alba*)叶片不同发育阶段萜烯产油量和萜烯合成酶(TPS)基因表达情况均不同<sup>[74-75]</sup>。

探讨葡萄果实在开花后 4 周至成熟过程中萜烯的变化,样品中检测到 5 种单萜、24 种倍半萜和 4 种降碳倍半萜及其衍生物。不同发育阶段果实萜烯结构的明显差异表明,不同成熟阶段果实萜烯的生物合成机制可能不同。在浆果发育早期产生的萜烯可以降解成其他化合物或转化为非挥发性形式,在果实发育的最后 2 周,倍半萜浓度的急剧增加表明,收获期葡萄中的萜烯不一定是在收获期后合成的,因为化合物或它们的前体可能已经存在于收获期前的葡萄中,而收获期起着将这些前体转化为最终产品的作用。萜烯的生物合成更依赖于其所属途径的激活,而通过类似途径合成的萜烯往往出现在相似的浆果发育阶段。同一生物合成途径产生的萜烯在果实发育过程中具有相似的生产模式<sup>[76]</sup>。

决定萜类化合物成分和产量的因素很多。在某些情况下,很难将这些因素彼此分开,因为许多因素是相互依赖的,并且相互影响<sup>[77]</sup>。这些变量可能包括季节和成熟度变化、地理起源、遗传变异、生长阶段及采收后的干燥和贮藏<sup>[78]</sup>。

## 7 讨论

植物的次生代谢产物是植物在长期进化过程中与环境之间相互作用的结果,次生代谢产物合成途径对周围生存环境短期及长期变化均能够做出快速调整,提高植物自身保护和生存竞争能力,各环境因

子对植物萜类体内萜类化合物的合成均具有很大影响。环境温度对植物体内不同类型萜类化合物作用相反。升温可以促进挥发性萜类化合物的合成和排放,但较低的日间温度则会提高非挥发性萜类化合物含量。萜类化合物对植物具有保护作用,避免植物受到紫外线辐射伤害,紫外辐射在不同阶段均能促进植物萜类化合物的生物合成,且具有持续性影响。中度干旱能提高萜类化合物含量,但重度干旱则起到相反作用。不同臭氧浓度对植物体内萜类化合物合成影响不同,植物暴露于急性和高浓度臭氧环境中时会提高植物中异戊二烯的释放量。当植物暴露于低、中度或长期的臭氧环境中时,萜类化合物浓度甚至会降低。综上所述,日间温度较低、紫外线较强、轻度干旱、高浓度臭氧更有利于植物体内萜类化合物的合成,但实际上,植物生长过程中,其体内萜类化合物的合成是多个环境因子共同作用下的表现,如海拔和纬度所形成的大环境。不同的纬度、海拔地区形成了不同的植物类型和亚系,也形成了具有不同次生代谢产物的植物类型。高海拔地区具有紫外线辐射较强,臭氧浓度较高的特点;高纬度地区

气温相对较低,紫外线辐射较高,光照充足,降水量相对减少。高纬度,高海拔是否有利于植物体内萜类化合物合成,在不同海拔或纬度的影响下,植物体内萜类化合物的类型和含量是否具有一定规律性变化,目前这方面的研究比较缺乏。

植物体内萜类化合物的合成不仅受到环境因素的影响,一定程度还受到植物本身品种,自身生长发育阶段,即植物本身基因型和各阶段不同基因表达的影响,植物体内萜类化合物含量与植物生长环境和植物本身基因型之间存在着复杂的联系。在某一特定环境中,哪些因素在植物萜类化合物的合成过程中发挥了优势主导作用,研究难度更大,但也更有意思。植物次生代谢产物是植物长期适应其生存环境长期产生的,比植物出生代谢产物包含更多环境信息,研究植物体内萜类化合物与环境的关系,可以为更全面、深入认识植物与环境的相互关系提供新的研究途径,为其他植物次生代谢产物的研究提供参考依据,同时也有利于人类更加有效、合理利用植物体类萜类化合物。

## 参考文献:

- [1] LANGE B M, RUJAN T, MARTIN W, *et al.* Isoprenoid biosynthesis: The evolution of two ancient and distinct pathways across genomes[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2000, **97**(24): 13 172-13 177.
- [2] HARDH K., HARDH J E. Studies on quality of vegetables and strawberries at different latitudes in Finland[J]. *Annales Agriculturae Fenniae*, 1977, **16**(1): 19-26.
- [3] YU F N, UTSUMI R. Diversity, regulation, and genetic manipulation of plant mono- and sesquiterpenoid biosynthesis[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2009, **66**(18): 3 043-3 052.
- [4] BARNETT JR. LANGENHEIM, J. H. Plant resins: chemistry, evolution, ecology and ethnobotany[J]. *Annals of Botany*, 2004, **93**(6): 784.
- [5] ROBERTS S C. Production and engineering of terpenoids in plant cell culture[J]. *Nature Chemical Biology*, 2007, **3**(7): 387-395.
- [6] GERSHENZON J, CROTEAU R B. Terpenoid Biosynthesis: the Basic Pathway and Formation of Monoterpenes, Sesquiterpenes, and Diterpenes [M]. *Lipid Metabolism in Plants*. Michigan: CRC Press, 2018: 339-388.
- [7] ZWENGER S, BASU C. Plant terpenoids: applications and future potentials[J]. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews*, 2008, **3**(1): 1-7.
- [8] THOLL D. Biosynthesis and Biological Functions of Terpenoids in Plants[J]. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 2015, 148: 63-106.
- [8] THOLL D. Biosynthesis and Biological Functions of Terpenoids in Plants[M]. Cham: Springer, 2015: 63-106.
- [9] CRAGG G M, NEWMAN D J. Plants as a source of anticancer and anti-HIV agents[J]. *Annals of Applied Biology*, 2003, **143**(2): 127-133.
- [10] SRIVASTAVA V, NEGI A S, KUMAR J K, *et al.* Plant-based anticancer molecules: A chemical and biological profile of some important leads[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2005, **13**(21): 5 892-5 908.
- [11] YU K W, MURTHY H N, HAHN E J, *et al.* Ginsenoside production by hairy root cultures of *Panax ginseng*: influence of temperature and light quality[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2005, **23**(1): 53-56.
- [12] JANAS K M, CVIKROVÁ M, PAŁAGIEWICZ A, *et al.* Constitutive elevated accumulation of phenylpropanoids in soybean roots at low temperature[J]. *Plant Science*, 2002,



- 163**(2): 369-373.
- [13] LIU Z J. Drought-induced in vivo synthesis of camptothecin in *Camptotheca acuminata* seedlings[J]. *Physiologia Plantarum*, 2000, **110**(4): 483-488.
- [14] SALLAS L, LUOMALA E M, UTRIAINEN J, *et al.* Contrasting effects of elevated carbon dioxide concentration and temperature on Rubisco activity, chlorophyll fluorescence, needle ultrastructure and secondary metabolites in conifer seedlings[J]. *Tree Physiology*, 2003, **23**(2): 97-108.
- [15] AINSWORTH E A, ORT D R. How do we improve crop production in a warming world[J]. *Plant Physiology*, 2010, **154**(2): 526-530.
- [16] HANNAH M A, HEYER A G, HINCHA D K. A global survey of gene regulation during cold acclimation in *Arabidopsis thaliana*[J]. *PLoS Genetics*, 2005, **1**(2): 26.
- [17] SHARKEY T D, WIBERLEY A E, DONOHUE A R. Isoprene emission from plants: why and how[J]. *Annals of Botany*, 2007, **101**(1): 5-18.
- [18] LORETO F, CICCIOLO P, CECINATO A, *et al.* Influence of environmental factors and air composition on the emission of [ $\alpha$ ]-pinene from *Quercus ilex* leaves[J]. *Plant Physiology*, 1996, **110**(1): 267-275.
- [19] DUHL T R, HELMIG D, GUENTHER A. Sesquiterpene emissions from vegetation: a review [J]. *Biogeosciences*, 2008, **5**(3): 761-777.
- [20] TINGEY D T, MANNING M, GROTHAUS L C, *et al.* Influence of light and temperature on monoterpene emission rates from slash pine[J]. *Plant Physiology*, 1980, **65**(5): 797-801.
- [21] BLANCH J, PEÑUELAS J, SARDANS J, *et al.* Drought, warming and soil fertilization effects on leaf volatile terpene concentrations in *Pinus halepensis* and *Quercus ilex*[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2009, **31**(1): 207-218.
- [22] SCHUH G, HEIDEN A C, HOFFMANN T, *et al.* Emissions of volatile organic compounds from sunflower and beech: dependence on temperature and light intensity[J]. *Journal of Atmospheric Chemistry*, 1997, **27**(3): 291-318.
- [23] TINGEY D T, TURNER D P, WEBER J A. Factors controlling the emissions of monoterpenes and other volatile organic compounds[J]. *Trace Gas Emissions by Plants*, 1991: 93-119.
- [24] LINCOLN D E, LANGENHEIM J H. Effect of light and temperature on monoterpene yield and composition in *Satureja douglasii*[J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 1978, **6**(1): 21-32.
- [25] MARTINS F T, SANTOS M H, POLO M, *et al.* Effects of the interactions among macronutrients, plant age and photoperiod in the composition of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit essential oil from Alfenas(MG), Brazil[J]. *Flavour and Fragrance Journal*, 2007, **22**(2): 123-129.
- [26] COPOLOVICI L, KÄNNASTE A, PAZOUKI L, *et al.* Emissions of green leaf volatiles and terpenoids from *Solanum lycopersicum* are quantitatively related to the severity of cold and heat shock treatments[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2012, **169**(7): 664-672.
- [27] CALDWELL M M, BJÖRN L O, BORNMAN J F, *et al.* Effects of increased solar ultraviolet radiation on terrestrial ecosystems[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 1998, **46**(1-3): 40-52.
- [28] BORNMAN J F. Environmental effects of ozone depletion and its interactions with climate change: 2006 assessment [J]. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2007, **6**(3): 209.
- [29] BALLARE C L, BARNES P W, KENDRICK R E. Photomorphogenic effects of UV-B radiation on hypocotyl elongation in wild type and stable-phytochrome-deficient mutant seedlings of cucumber[J]. *Physiologia Plantarum*, 1991, **83**(4): 652-658.
- [30] GIL M, PONTIN M, BERLI F, *et al.* Metabolism of terpenes in the response of grape (*Vitis vinifera* L.) leaf tissues to UV-B radiation[J]. *Phytochemistry*, 2012, **77**: 89-98.
- [31] BERLI F J, FANZONE M, PICCOLI P, *et al.* Solar UV-B and ABA are involved in phenol metabolism of *Vitis vinifera* L. increasing biosynthesis of berry skin polyphenols [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, **59**(9): 4 874-4 884.
- [32] GIL M, BOTTINI R, BERLI F, *et al.* Volatile organic compounds characterized from grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Malbec) berries increase at pre-harvest and in response to UV-B radiation[J]. *Phytochemistry*, 2013, **96**: 148-157.
- [33] DAY T A, RUHLAND C T, GROBE C W, *et al.* Growth and reproduction of Antarctic vascular plants in response to warming and UV radiation reductions in the field[J]. *Oecologia*, 1999, **119**(1): 24-35.
- [34] BARTA C, KÁLAI T, HIDEG K, *et al.* Differences in the ROS-generating efficacy of various ultraviolet wavelengths in detached spinach leaves [J]. *Functional Plant Biology*, 2004, **31**(1): 23.
- [35] YAO Y N, YANG Y Q, REN J, *et al.* UV-spectra dependence of seedling injury and photosynthetic pigment change in *Cucumis sativus* and *Glycine max* [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2006, **57**(1-2): 160-167.
- [36] TERAMURA A H. Effects of ultraviolet-B radiation on the growth and yield of crop plants[J]. *Physiologia Plantarum*, 1983, **58**(3): 415-427.
- [37] GIL M, BOTTINI R, PONTIN M, *et al.* Solar UV-B radiation modifies the proportion of volatile organic compounds in flowers of field-grown grapevine (*Vitis vinifera* L.) cv.



- Malbec [J]. *Plant Growth Regulation*, 2014, **74**(2): 193-197.
- [38] CHAPMAN RE, AFFOLTER JM, KAYS SJ. Environmental variables influence the foliar concentration and emission of mono- and sesquiterpenes in lemon verbena (*Aloysia citriodora*) [R]. San Jose McEnery Convention Center, 2007.
- [39] EICHHOLZ I, HUYSKENS-KEIL S, KELLER A, *et al.* UV-B-induced changes of volatile metabolites and phenolic compounds in blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) [J]. *Food Chemistry*, 2011, **126**(1): 60-64.
- [40] RAI R, MEENA R P, SMITA S S, *et al.* UV-B and UV-C pre-treatments induce physiological changes and artemisinin biosynthesis in *Artemisia annua* L. - An antimalarial plant [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2011, **105**(3): 216-225.
- [41] LLUSIA J, LLORENS L, BERNAL M, *et al.* Effects of UV radiation and water limitation on the volatile terpene emission rates, photosynthesis rates, and stomatal conductance in four Mediterranean species [J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2012, **34**(2): 757-769.
- [42] TURTOLA S, SALLAS L, HOLOPAINEN J K, *et al.* Long-term exposure to enhanced UV-B radiation has no significant effects on growth or secondary compounds of outdoor-grown Scots pine and Norway spruce seedlings [J]. *Environmental Pollution*, 2006, **144**(1): 166-171.
- [43] RANDRIAMANANA T R, LAVOLA A, JULKUNEN-TIITTO R. Interactive effects of supplemental UV-B and temperature in *European aspen* seedlings: Implications for growth, leaf traits, phenolic defense and associated organisms [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2015, 93: 84-93.
- [44] NENADIS N, LLORENS L, KOUFOGIANNI A, *et al.* Interactive effects of UV radiation and reduced precipitation on the seasonal leaf phenolic content/composition and the antioxidant activity of naturally growing *Arbutus unedo* plants [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2015, 153: 435-444.
- [45] SONG J Q, SMART R, WANG H, *et al.* Effect of grape bunch sunlight exposure and UV radiation on phenolics and volatile composition of *Vitis vinifera* L. cv. Pinot noir wine [J]. *Food Chemistry*, 2015, 173: 424-431.
- [46] KAWOOSA T, SINGH H, KUMAR A, *et al.* Light and temperature regulated terpene biosynthesis: hepatoprotective monoterpene picroside accumulation in *Picrorhiza kurroa* [J]. *Functional & Integrative Genomics*, 2010, **10**(3): 393-404.
- [47] KORTH K L, JAGGARD D A W, DIXON R A. Developmental and light-regulated post-translational control of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase levels in potato [J]. *The Plant Journal*, 2000, **23**(4): 507-516.
- [48] SANGWAN N S, FAROOQI A H A, SHABIH F, *et al.* Regulation of essential oil production in plants [J]. *Plant Growth Regulation*, 2001, **34**(1): 3-21.
- [49] CHAVES M M, MAROCO J P, PEREIRA J S. Understanding plant responses to drought— from genes to the whole plant [J]. *Functional Plant Biology*, 2003, **30**(3): 239-264.
- [50] LORETO F, FISCHBACH R J, SCHNITZLER J, *et al.* Monoterpene emission and monoterpene synthase activities in the Mediterranean evergreen oak *Quercus ilex* L. grown at elevated CO<sub>2</sub> concentrations [J]. *Global Change Biology*, 2001, **7**(6): 709-717.
- [51] LLUSIÀ J, PENUELAS J. Changes in terpene content and emission in potted Mediterranean woody plants under severe drought [J]. *Canadian Journal of Botany*, 1998, **76**(8): 1366-1373.
- [52] KAINULAINEN P, OKSANEN J, PALOMÄKI V, *et al.* Effect of drought and waterlogging stress on needle monoterpenes of *Picea abies* [J]. *Canadian Journal of Botany*, 1992, **70**(8): 1613-1616.
- [53] DELFINE S, LORETO F, PINELLI P, *et al.* Isoprenoids content and photosynthetic limitations in rosemary and spearmint plants under water stress [J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2005, **106**(2-3): 243-252.
- [54] HODGES J, LORIO P. Moisture stress and composition of xylem oleoresin in loblolly pine [J]. *Forest Science*, 1975, **21**(3): 283-290.
- [55] TURTOLA S, MANNINEN A M, RIKALA R, *et al.* Drought stress alters the concentration of wood terpenoids in Scots pine and Norway spruce seedlings [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2003, **29**(9): 1981-1995.
- [56] BERTIN N, STAUDT M. Effect of water stress on monoterpene emissions from young potted holm oak (*Quercus ilex* L.) trees [J]. *Oecologia*, 1996, **107**(4): 456-462.
- [57] DELFINE S, LORETO F, PINELLI P, *et al.* Isoprenoids content and photosynthetic limitations in rosemary and spearmint plants under water stress [J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2005, **106**(2-3): 243-252.
- [58] SAVOI S, WONG D C J, ARAPITSAS P, *et al.* Transcriptome and metabolite profiling reveals that prolonged drought modulates the phenylpropanoid and terpenoid pathway in white grapes (*Vitis vinifera* L.) [J]. *BMC Plant Biology*, 2016, 16: 67.
- [59] ORMENO E, MÉVY J P, VILA B, *et al.* Water deficit stress induces different monoterpene and sesquiterpene emission changes in Mediterranean species. Relationship between terpene emissions and plant water potential [J]. *Chemosphere*, 2007, **67**(2): 276-284.
- [60] KLEINE S, MÜLLER C. Drought stress and leaf herbivory

- affect root terpenoid concentrations and growth of *Tanacetum vulgare*[J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2014, **40**(10): 1 115-1 125.
- [61] GRASSMANN J, HIPPELI S, ELSTNER E F. Plant's defence and its benefits for animals and medicine: role of phenolics and terpenoids in avoiding oxygen stress[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2002, **40**(6-8): 471-478.
- [62] AFFEK H P, YAKIR D. Protection by isoprene against singlet oxygen in leaves[J]. *Plant Physiology*, 2002, **129**(1): 269-277.
- [63] LORETO F, FARES S. Is ozone flux inside leaves only a damage indicator? clues from volatile isoprenoid studies[J]. *Plant Physiology*, 2007, **143**(3): 1 096-1 100.
- [64] FARES S, BARTA C, BRILLI F, *et al.* Impact of high ozone on isoprene emission, photosynthesis and histology of developing *Populus alba* leaves directly or indirectly exposed to the pollutant[J]. *Physiologia Plantarum*, 2006, **128**(3): 456-465.
- [65] LORETO F, PINELLI P, MANES F, *et al.* Impact of ozone on monoterpene emissions and evidence for an isoprene-like antioxidant action of monoterpenes emitted by *Quercus ilex* leaves[J]. *Tree Physiology*, 2004, **24**(4): 361-367.
- [66] VELIKOVA V, TSONEV T, PINELLI P, *et al.* Localized ozone fumigation system for studying ozone effects on photosynthesis, respiration, electron transport rate and isoprene emission in field-grown Mediterranean oak species[J]. *Tree Physiology*, 2005, **25**(12): 1 523-1 532.
- [67] D'ANGIOLILLO F, TONELLI M, PELLEGRINI E, *et al.* Can ozone alter the terpenoid composition and membrane integrity of in vitro *Melissa officinalis* shoots? [J]. *Natural Product Communications*, 2015, **10**(6): 1 055-1 058.
- [68] CALFAPIETRA C, WIBERLEY A E, FALBEL T G, *et al.* Isoprene synthase expression and protein levels are reduced under elevated O<sub>3</sub> but not under elevated CO<sub>2</sub> (FACE) in field-grown aspen trees[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2007, **30**(5): 654-661.
- [69] RYAN A, COJOCARIU C, POSSELL M, *et al.* Defining hybrid poplar (*Populus deltoides* × *Populus trichocarpa*) tolerance to ozone: identifying key parameters[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2009, **32**(1): 31-45.
- [70] PINTO D M, NERG A, HOLOPAINEN J K. The role of ozone-reactive compounds, terpenes, and green leaf volatiles (GLVs), in the orientation of *Cotesia plutellae*[J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2007, **33**(12): 2 218-2 228.
- [71] THOLL D. Terpene synthases and the regulation, diversity and biological roles of terpene metabolism[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2006, **9**(3): 297-304.
- [72] SAEB K, GHOLAMREZAEE S. Variation of essential oil composition of *Melissa officinalis* L. leaves during different stages of plant growth[J]. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2012, **2**(2): 547-549.
- [73] GREVSEN K, FRETTE X, CHRISTENSEN L P. Content and composition of volatile terpenes, flavonoids and phenolic acids in Greek Oregano (*Origanum vulgare* L. ssp *hirtum*) at different development stages during cultivation in cool temperate climate[J]. *European Journal of Horticultural Science*, 2009, **74**(5): 193-203.
- [74] CHRISTENSEN L P, GREVSEN K. Effect of development stage at harvest on the composition and yield of essential oils from thyme and oregano[J]. *Flavour Science - Recent Advances and Trends.*, 2006: 261-264.
- [75] PANDELÓ D, MELO T D, SINGULANI J L, *et al.* Oil production at different stages of leaf development in *Lippia alba*[J]. *Revista Brasileira De Farmacognosia*, 2012, **22**(3): 497-501.
- [76] ZHANG P Z, FUENTES S, SIEBERT T, *et al.* Terpene evolution during the development of *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz grapes[J]. *Food Chemistry*, 2016, **204**: 463-474.
- [77] TERBLANCHE FC. The characterization, utilization and manufacture of products recovered[D]. Pretoria; University of Pretoria. 2000.
- [78] ANWAR F, HUSSAIN A I, SHERAZI S T H, *et al.* Changes in composition and antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) fruit at different stages of maturity[J]. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 2009, **15**(2): 187-202.

(编辑:潘新社)