

## · 研究报告 ·

**叶乃兴** 福建农林大学教授，茶学福建省高校重点实验室主任。长期从事茶树栽培育种与茶叶品质化学研究。主持完成首个茶树单倍型解析的黄槎基因组和茉莉花基因组研究；参与育成金观音、黄观音、金牡丹等 7 个国优品种；主编规划教材《茶学概论》《茶学研究法》；主编《白茶品种与品质化学研究》《白茶科学·技术与市场》等学术专著；在国内外学术期刊发表论文 150 余篇；获得福建省科学技术二等奖 3 项、三等奖 2 项；授权发明专利 12 件。中国茶叶学会学术工作委员会委员。



**杨如兴** 福建省农业科学院茶叶研究所副所长、研究员。主要从事茶树品种与栽培研究，先后主持国家、省部项目 10 余项。参与育成金观音、金牡丹、黄玫瑰等国家级茶树品种 7 个和紫玫瑰、早春毫等省级茶树良种 2 个；获省科学技术二等奖 2 项、省科学技术三等奖 1 项，发明专利 8 项，发表论文 70 多篇，主编学术著作 2 部。任福建省农学会常务理事和福建省茶叶学会理事；获福建青年科技奖等荣誉称号。



# 高茶氨酸茶树新品系‘福黄 2 号’黄化变异机理

林馨颖<sup>1</sup>, 邵淑贤<sup>1</sup>, 王鹏杰<sup>1,2</sup>, 杨如兴<sup>3</sup>, 郑玉成<sup>1</sup>, 陈潇敏<sup>1</sup>, 张磊<sup>3</sup>, 叶乃兴<sup>1</sup>

1 福建农林大学 园艺学院 茶学福建省高校重点实验室, 福建 福州 350002

2 中国农业科学院 深圳农业基因组研究所, 广东 深圳 518120

3 福建省农业科学院 茶叶研究所, 福建 福州 350013

林馨颖, 邵淑贤, 王鹏杰, 杨如兴, 郑玉成, 陈潇敏, 张磊, 叶乃兴. 高茶氨酸茶树新品系‘福黄 2 号’黄化变异机理. 生物工程学报, 2022, 38(10): 3956-3972.

LIN XY, SHAO SX, WANG PJ, YANG RX, ZHENG YC, CHEN XM, ZHANG L, YE NX. The albino mechanism of a new theanine-rich tea cultivar ‘Fuhuang 2’. Chin J Biotech, 2022, 38(10): 3956-3972.

**Received:** January 27, 2022; **Accepted:** July 27, 2022; **Published online:** August 11, 2022

**Supported by:** Chinese Oolong Tea Industry Innovation Center Special Project (J2015-75); Projects of the Science and Technology Plan Projects in Fujian Province (2021R1029001); Fujian Agriculture and Forestry University Tea Industry Chain Technology Innovation and Service System Construction Project (K1520005A01); Special Fund for Science and Technology Innovation of Fujian Zhang Tianfu Tea Development Foundation (FJZTF01)

**Corresponding authors:** YE Naixing. E-mail: 000q020063@fafu.edu.cn

YANG Ruxing. E-mail: yangrx@faas.cn

**基金项目:** 中国乌龙茶产业协同创新中心专项 (闽教科 [2015] 75 号); 福建省属公益类科研院所基本科研专项 (2021R1029001); 福建农林大学茶产业链科技创新与服务体系建设项目 (K1520005A01)、福建张天福茶叶发展基金会科技创新基金 (FJZTF01)

**摘要:** 为了探讨茶树黄化变异和高茶氨酸形成机理,文中选用‘福云 6 号’和高茶氨酸茶树新品系‘福黄 2 号’为试验材料,利用超微电镜、广泛靶向代谢组学、靶向代谢组学和转录组学联合分析了茶树黄化变异的相关色素、代谢组及转录组数据。结果表明,通过靶向测定主要生化成分,共鉴定到 5 种儿茶素、可可碱和咖啡碱,以及 20 种游离氨基酸,包括茶氨酸、谷氨酰胺、精氨酸和谷氨酸等,其中,‘福黄 2 号’的氨基酸含量显著高于‘福云 6 号’,茶氨酸含量高达 57.37 mg/g。叶片的超微结构显示,‘福黄 2 号’叶绿体细胞结构模糊,基粒片层大部分排列散乱、间隙大,类囊体呈丝状。色素测定显示,叶绿素 a 和叶绿素 b、类胡萝卜素、类黄酮等色素含量显著下降,叶绿素酶 (chlorophyllase, *CLH*)、9-顺式-环氧类胡萝卜素双加氧酶 (9-*cis*-epoxycarotenoid dioxygenase, *NCED*)、类黄酮 3 $\beta$ -羟化酶 (flavonoid 3 $\beta$ -hydroxylase, *F3H*) 和类黄酮 3',5'-羟化酶 (flavonoid 3',5'-hydroxylase, *F3'5'H*) 等相关关键调控基因发生显著变化。与‘福云 6 号’相比,‘福黄 2 号’中共鉴定出 138 个差异代谢物 (significantly changed metabolites, SCMs) 和 658 个差异表达基因 (differentially expressed genes, DEGs), KEGG 富集分析表明, SCMs 和 DEGs 显著富集到与氨基酸生物合成、谷胱甘肽代谢以及三羧酸循环等途径。‘福黄 2 号’黄化表型可能是光合作用蛋白、叶绿素代谢基因和叶绿素含量的缺乏所致。高茶氨酸的积累可能由于黄化叶中低氮消耗,以及碳骨架的缺乏,氨基和氮资源被更有效地储存,使得氨基酸合成通路中的代谢物及相关基因表达上调,茶氨酸成为黄化叶中显著积累的含氮化合物。

**关键词:** 茶树; 福黄 2 号; 黄化; 代谢组学; 转录组学; 组学技术

## The albino mechanism of a new theanine-rich tea cultivar ‘Fuhuang 2’

LIN Xinying<sup>1</sup>, SHAO Shuxian<sup>1</sup>, WANG Pengjie<sup>1,2</sup>, YANG Ruxing<sup>3</sup>, ZHENG Yucheng<sup>1</sup>, CHEN Xiaomin<sup>1</sup>, ZHANG Lei<sup>3</sup>, YE Naixing<sup>1</sup>

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

2 Agriculture Genomics Institute at Shenzhen, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Shenzhen 518120, Guangdong, China

3 Tea Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou 350013, Fujian, China

**Abstract:** To explore the mechanism of tea albino variation and high theanine formation, ‘Fuyun 6’ and a new theanine-rich tea cultivar ‘Fuhuang 2’ were as materials in this study, pigment content, metabolome and transcriptome of the two cultivars were analyzed by ultramicroelectron microscopy, widely targeted metabolomics, targeted metabolomics and transcriptomics. The results showed that five catechins, theobromine, caffeine, and 20 free amino acids, including theanine, glutamine, arginine, etc., were identified by targeted metabolomics. The amino acid content of ‘Fuhuang 2’ was significantly higher than that of ‘Fuyun 6’, and the theanine content was as high as 57.37 mg/g in ‘Fuhuang 2’. The ultrastructure of leaves showed that the chloroplast cell structure of ‘Fuhuang 2’ was fuzzy, most of the

grana lamellae were arranged in disorder, with large gaps, and the thylakoids were filiform. The determination of pigments showed that compared with 'Fuyun 6', the contents of chlorophyll A and B, carotenoids, flavonoids and other pigments of 'Fuhuang 2' decreased significantly, some important pigment-related-genes, such as chlorophyllase (*CLH*), 9-*cis*-epoxycarotenoid dioxygenase (*NCED*), flavonoid 3 $\beta$ -hydroxylase (*F3H*) and flavonoid 3',5'-hydroxylase (*F3'5'H*) were significantly changed. Compared with 'Fuyun 6', 'Fuhuang 2' identified 138 significantly changed metabolites (SCMs) and 658 differentially expressed genes (DEGs). KEGG enrichment analysis showed that SCMs and DEGs were significantly enriched in amino acid biosynthesis, glutathione metabolism and TCA cycle. In general, the albino phenotype of 'Fuhuang 2' may be caused by a deficiency in photosynthetic proteins, chlorophyll metabolism genes and chlorophyll content. The accumulation of high theanine in 'Fuhuang 2' may be due to the low nitrogen consumption in yellowed leaves and the lack of carbon skeleton, amino and nitrogen resources are stored more effectively, resulting in the up regulation of metabolites and related gene expression in the amino acid synthesis pathway, theanine has become a significant accumulation of nitrogen-containing compounds in yellowed leaves.

**Keywords:** *Camellia sinensis*; Fuhuang 2; albino; metabolomics; transcriptomics; omics technology

植物叶片黄化是一种常见的现象,通常发生在绿色植物中,一般来说,叶片黄化是一种异常表型表达,在大多数植物中被认为是不良性状<sup>[1]</sup>。然而在茶树中,黄化茶树具有重要的产业应用价值,可产生高茶氨酸等功能成分代谢产物<sup>[2]</sup>。研究表明,黄化茶树品种中含有较低的茶素和较高的氨基酸含量是其良好风味产生的原因<sup>[3]</sup>。

茶树 (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) 是一种具有经济价值的木本作物<sup>[4]</sup>。近年来,我国已育成了'白叶1号'、'黄金芽'、'中黄1号'、'中黄2号'等黄化茶树新品种<sup>[5]</sup>。在黄化茶树突变体中发现,叶绿素生物合成或降解途径中相关基因的突变或阻断都可能导致茶树叶片色泽的变化,如叶绿素 a 镁脱氢酶 (stay-green, *SGR*) 可能引发'黄金水仙'叶绿素降解的加速,叶绿素含量降低,导致叶色变化<sup>[6]</sup>。此外,叶片色泽还受到其他色素和代谢途径的调控,如类黄酮和类胡萝卜素生物合成的综合作用决定'黄金芽'的叶片颜色<sup>[7]</sup>。在'中黄2号'的研究中,鉴定到

差异表达基因被定位到与氨基酸代谢、叶绿素生物合成和类黄酮生物合成相关的途径,这些途径被认为是'中黄2号'表型变化的原因<sup>[8]</sup>。

茶具有良好的风味品质,是儿茶素、生物碱和氨基酸等物质综合作用决定的,特别是游离氨基酸<sup>[9]</sup>。茶树芽叶中较为丰富的游离氨基酸有茶氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸和精氨酸等<sup>[10]</sup>。通常茶氨酸在干茶中的含量为1%–2%,占总氨基酸的40%–70%<sup>[11-12]</sup>。而茶树芽叶中的茶氨酸含量受到茶树品种、营养和生态环境等的影响,选育高茶氨酸茶树资源难度较大<sup>[11]</sup>。在黄化茶树中发现较高茶氨酸对高茶氨酸茶树种质的发掘利用具有重要作用,为选育高茶氨酸茶树品种提供新方向。

'福云6号'为国家级茶树优良品种(编号GS13003-1987),是我国的主要茶树栽培品种,其芽叶黄化突变体'福黄2号'是本研究团队挖掘的高茶氨酸茶树新品系。本研究以'福云6号'和'福黄2号'为供试材料,利用多组学技术初步探究其黄化变异形成及高茶氨酸累积的机制,

为高茶氨酸茶树黄化变异茶树资源选育的提供新的理论依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料处理

供试材料为‘福云6号’和‘福黄2号’,取自福建省宁德市蕉城区八都镇茶树品种示范茶园。2021年3月,选取一部分表型完整的春梢第二片叶片,并利用2.5%戊二醛将其固定,用于后续超微结构的鉴定。此外,采集的其余春梢一芽二叶立即用液氮固定,并存放于-80℃冰箱中,用于后续实验,设置3次重复。

### 1.2 叶绿体超微结构观察

将‘福云6号’和‘福黄2号’成熟、无虫口二叶进行固定、漂洗、渗透、包埋和聚合后,利用超薄切片机(EM UC7, Leica)切片并染色,并通过电镜(TEM Hitachi HT7700)观察叶绿体结构。具体透射电镜样品的制备和实验步骤参考Hao等<sup>[13]</sup>的方法。

### 1.3 叶绿素和类胡萝卜素含量测定

使用UV-3200分光光度法(Mapada)测定‘福云6号’和‘福黄2号’的叶绿素a、叶绿素b和总类胡萝卜素的含量,设置3次生物学重复。叶绿素和类胡萝卜素的具体提取以及操作步骤参考Wang等<sup>[14]</sup>的方法。利用超高效液相色谱质谱联用仪(ExionLCTMAD, <https://sciex.com.cn/>; QTRAP<sup>®</sup> 6500+, <https://sciex.com.cn/>)对‘福云6号’和‘福黄2号’的类胡萝卜素组分进行了定量,其具体方法参考林馨颖等<sup>[15]</sup>的方法。液相条件:流动相A 甲醇/乙腈(0.01% BHT和0.1%甲酸),流动相B 甲基叔丁基醚(0.01% BHT),色谱柱 YMC C30 (3 mm, 100 mm×2.0 mm i.d.)。梯度洗脱条件:0-3 min A/B为100:0 (V/V), 3 min为100:0 (V/V), 5 min为30:70 (V/V), 9 min为5:95 (V/V), 10 min为

100:0 (V/V), 11 min为100:0 (V/V);流速0.8 mL/min;柱温28℃;进样量2 μL。质谱条件主要包括:大气压化学离子源(atmospheric pressure chemical ionization source, APCI)温度350℃,气帘气(curtain gas, CUR) 25 psi。在Q-Trap 6500+中,每个离子对是根据优化的去簇电压(declustering potential, DP)和碰撞能(collison energy, CE)进行扫描检测。

### 1.4 主要生化成分含量的测定

利用液质联用仪(Sciex 4500 QTrap 质谱仪; Nexera X2LC-30A)对‘福云6号’和‘福黄2号’游离氨基酸含量进行测定,具体方法参考陈思彤等<sup>[16]</sup>。儿茶素和生物碱的含量测定参考陈潇敏等<sup>[17]</sup>方法,对8种儿茶素(GC、EGC、C、EGCG、EC、GCG、ECG、CG)与3种生物碱(咖啡碱、可可碱、茶叶碱)进行测定。

### 1.5 代谢物的LC-MS/MS分析

利用超高效液相色谱质谱联用仪(SHIMADZU Nexera X2, <https://www.shimadzu.com.cn/>; Applied Biosystems 4500 QTRAP, <http://www.appliedbiosystems.com.cn/>)对‘福云6号’和‘福黄2号’进行物质鉴定,液相条件和质谱条件具体参考Lin等<sup>[18]</sup>的报道。液相条件:流动相A为超纯水(0.1%的甲酸),流动相B为乙腈(0.1%的甲酸);洗脱梯度条件:0 min B相为5%, 9 min B相为95%(维持1min), 10-14 min B相为5%;色谱柱:Agilent SB-C18 1.8 μm, 2.1 mm×100 mm;流速0.35 mL/min;柱温40℃;进样量4 μL。质谱条件:质谱条件主要包括:电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI)温度550℃,离子喷雾电压(ion spray voltage, IS) 5 500 V(正离子模式)/-4 500 V(负离子模式);离子源气体I(ion source gas I, GS I),气体II(ion source gas II, GS II)和帘气(curtain gas, CUR)分别设置为50、60和

25 psi, 碰撞诱导电离参数设置为高。差异代谢物筛选分析是通过多元统计分析 VIP 值 (variable importance in projection, VIP)、 $P$  值 ( $P$ -value,  $P$ ) 及差异倍数, 并对差异代谢成分进行聚类分析、绘制热图、KEGG (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 富集分析。

### 1.6 转录组测序及分析

对‘福云 6 号’和‘福黄 2 号’的总 RNA 的提取及质量控制参考 Zheng 等方法<sup>[19]</sup>。利用 Illumina HiSeq 测序平台 (迈特维尔生物科技有限公司, 武汉) 对文库片段进行测序。所获得的结果与茶树‘黄桫’基因组<sup>[4]</sup>进行序列比对。对所获得的基因序列进行计数 (featureCounts<sup>[20]</sup>)、计算 (FPKM) 及校正 (DESeq2、Benjamini-Hochberg 法)。筛选差异表达基因, 其条件为  $|\log_2 \text{fold change}| \geq 1$ , 且  $\text{FDR} < 0.05$ 。差异基因的 KEGG 富集分析使用 clusterProfiler 软件<sup>[21]</sup>。

### 1.7 转录组数据验证

随机挑选 7 个差异表达基因验证转录组数据的可靠性, 通过 Primer3Plus 设计荧光定量引物 (表 1)。根据已提取的总 RNA, 以 *CsGAPDH* (GenBank 登录号: GE651107) 作为内参基因<sup>[22]</sup>, 利用全式金 Easyscript One-step gDNA Removal

and cDNA synthesis superMix 试剂盒 (北京全式金生物技术股份有限公司) 合成‘福黄 2 号’和‘福云 6 号’的 cDNA 作为实时荧光定量 PCR 模板。具体方法参照林馨颖等<sup>[23]</sup>方法。

## 2 结果与分析

### 2.1 ‘福黄 2 号’芽叶表型特征和超微结构分析

采集‘福黄 2 号’和‘福云 6 号’的新梢一芽二叶 (图 1A1、B1)。对其进行超微结构观察, ‘福云 6 号’细胞结构清晰、液泡充盈、叶绿体 (chloroplast, Ch) 细胞膜结构完整, 沿着细胞壁 (cell wall, CW) 分布, 多呈梭形或长椭圆形, 类囊体 (thylakoid, Th) 结构较为完整, 基粒 (grana, Gr) 层数较多, 连接各基粒片层的基质类囊体膜结构清晰可见, 有少许嗜铁颗粒 (osmophilic granule, OG) (图 1A2、A3、A4)。  
‘福黄 2 号’较绿叶而言, 其细胞中产生较多液泡 (vacuole, Va), 细胞结构模糊, 叶绿体细胞膜结构不完整, 与细胞壁分散较远, 游离在细胞内, 呈现不规则形状。叶绿体内部结构发育不良, 基粒片层大部分排列散乱、间隙大, 类囊体呈丝状 (图 1B2、B3、B4)。以上结果说明茶树色泽变化的叶片叶绿体超微结构发生较大变异。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

Gene ID	Gene name	Forward primer sequence (5'→3')	Reverse primer sequence (5'→3')
HD.13G0020620	<i>HEMA</i>	ATCACTGGCTTTGGCAGGAA	CAGCAGCAATGTTCGTCTCG
HD.08G0023950	<i>NCED</i>	AGCCCAAACCCTCTACTCCA	CGGAGACAACGATGACGGAT
HD.07G0015710	<i>LHCB1</i>	CTTGGGCAACCCTAGCTTGA	GCTAGGCCCAATGGATCGAA
HD.10G0001820	<i>CAR</i>	CACGTCTCTCACTACGGCAT	AGACGCGTCCATCTGAATCC
HD.06G0022520	<i>CYNT</i>	TCCATCTCGTGTCTCGACT	CGACTGTGTCCGATGACCAA
HD.03G0016260	<i>LRR</i>	ACTTTGTGCGCTCTCCCATC	GGTGAAGCTAGAAGCGTGGA
HD.02G0006170	<i>PBPI</i>	TCAATGGTTGAGAGGCTCGG	CAGACCCTTTTCCACGTCCA

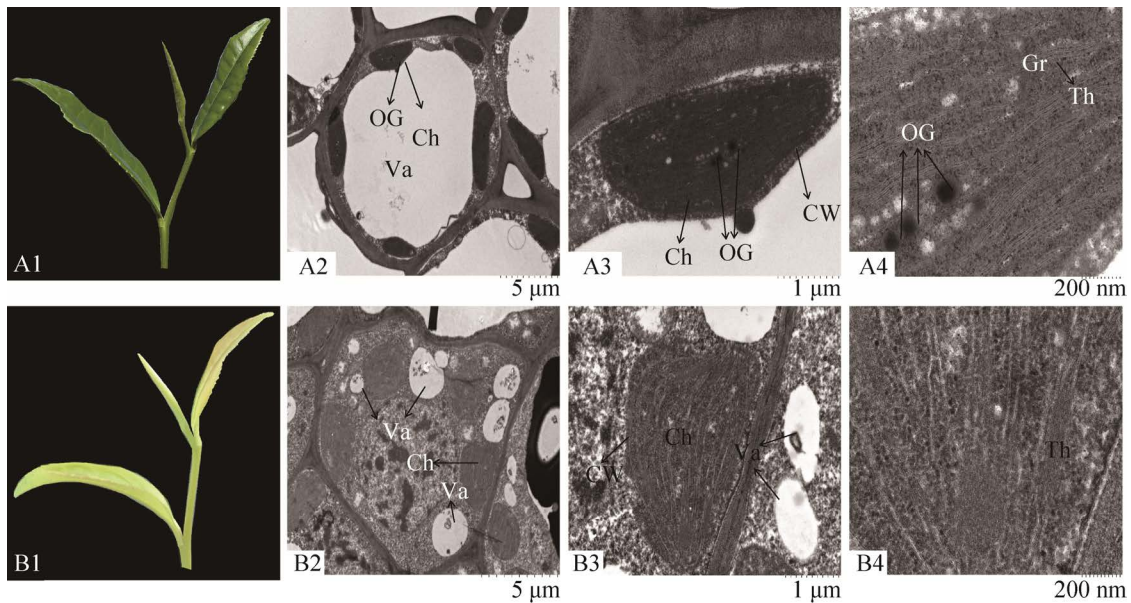


图 1 ‘福云 6 号’和‘福黄 2 号’表型特征和叶细胞超微结构 A1–A4: ‘福云 6 号’表型和超微结构; B1–B4: ‘福黄 2 号’表型和超微结构

Figure 1 The phenotypic characteristics and leaf cell ultrastructure of ‘Fuyun 6’ and ‘Fuhuang 2’. A1–A4: the phenotype and ultrastructure of ‘Fuyun 6’; B1–B4: the phenotype and ultrastructure of ‘Fuhuang 2’.

## 2.2 ‘福黄 2 号’春梢芽叶代谢组分析

### 2.2.1 ‘福黄 2 号’代谢物分析及差异代谢物筛选

在‘福黄 2 号’和‘福云 6 号’中共鉴定出 1 154 种代谢物，主成分分析和正交偏最小二乘判别分析结果显示 (图已提交国家微生物科学数据中心 (编号: NMDCX0000139)), 两者代谢物明显分离。以  $VIP \geq 1$ ,  $\text{fold change} \geq 2$  和  $\text{fold change} \leq 0.5$  为筛选条件, 筛选到 138 种差异代谢物, 其中有 36 种含量显著上调, 102 种显著下调, 这些差异代谢物可分为 11 类 (图 2A、2B)。

为了更清楚地观察‘福云 6 号’和‘福黄 2 号’差异代谢物的变化, 构建 138 个差异代谢物的热图生成 (图已提交国家微生物科学数据中心 (编号: NMDCX0000139))。发现 20 个核苷酸和衍生物在‘福云 6 号’和‘福黄 2 号’中存在差异积累, 其中 16 个在‘福黄 2 号’中显著降低, 包括腺苷、鸟苷、尿嘧啶核苷等。12 种黄酮代谢

物在‘福黄 2 号’中有差异积累, 尤其是槲皮素类和芹菜素类, 黄酮合成前体物之一的肉桂酸显著上调, 上调了 3 倍。在‘福黄 2 号’中鉴定到大量脂质, 共 50 种, 并呈显著下调趋势, 共有 43 种下调, 有趣的是, 上调的 7 种代谢物均为游离脂肪酸和甘油酯, 而下调的基本为溶血磷脂酰胆碱。与‘福云 6 号’相比, 检测到 8 种有机酸在‘福黄 2 号’中发生显著变化, 其中增加了 6 个, 减少了 2 个, 其中酮戊二酸显著上调 2.24 倍。

### 2.2.2 ‘福黄 2 号’和‘福云 6 号’差异代谢物 KEGG 功能富集分析

‘福黄 2 号’和‘福云 6 号’春梢芽叶差异代谢物 KEGG 富集结果表明, 138 种差异代谢物共富集到 58 条通路, 其中主要富集到氨基酸生物合成途径、TCA 循环、黄酮生物合成、嘌呤代谢等途径 (图 3)。与碳和氮相关的代谢通路发生代谢重编事件, 如各氨基酸代谢途径和磷酸

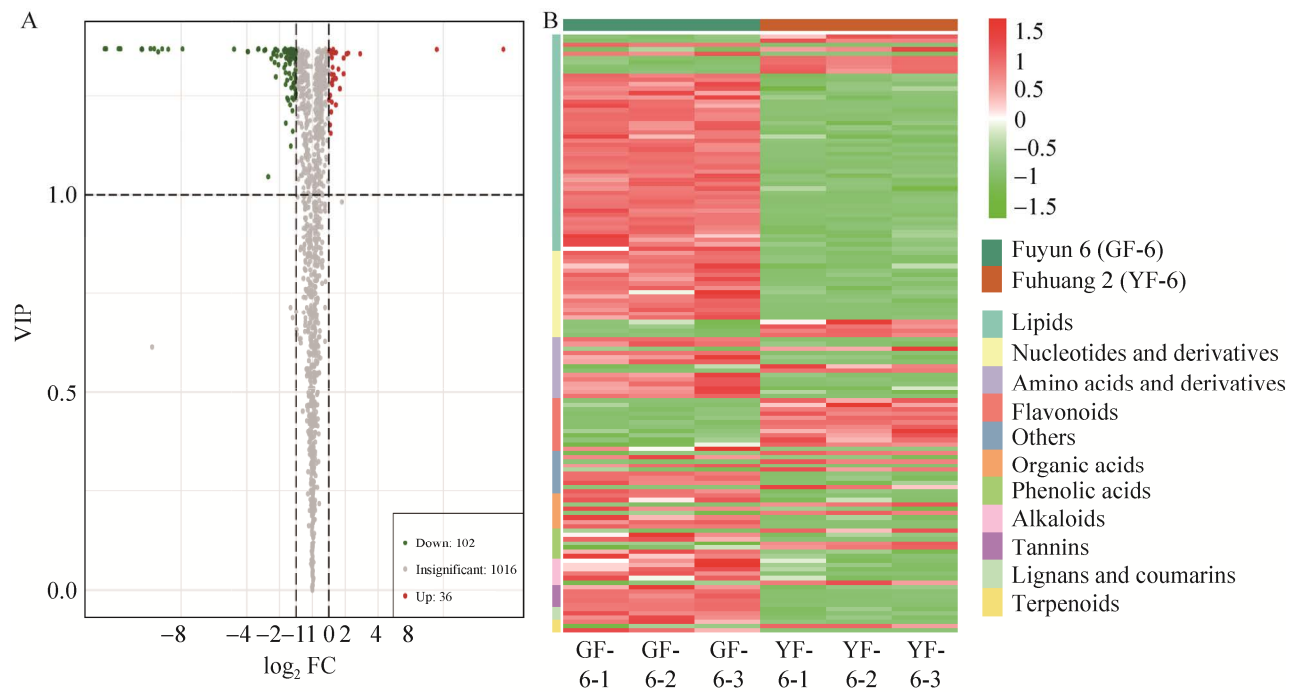


图2 ‘福云6号’和‘福黄2号’广泛靶向代谢物差异分析 A: 差异代谢物火山图; B: 差异代谢物聚类热图

Figure 2 Widely targeted metabolite analysis for ‘Fuyun 6’ and ‘Fuhuang 2’. (A) SCMs volcano map. (B) SCMs heatmap

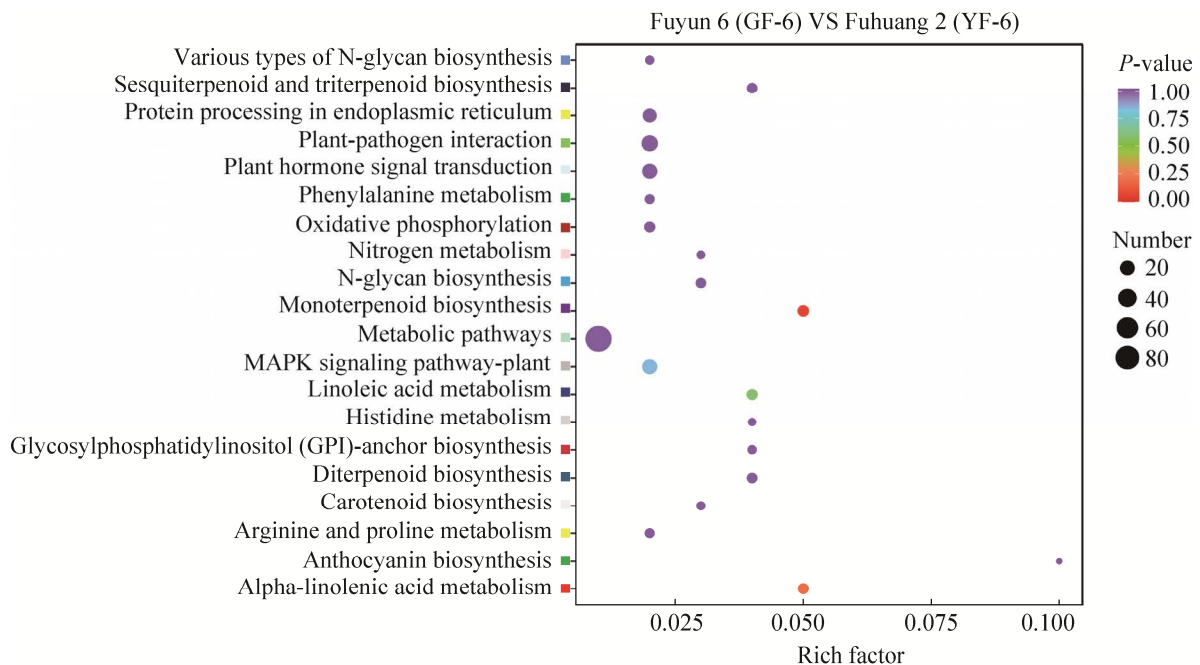


图3 ‘福云6号’和‘福黄2号’差异代谢物 KEGG 富集分析

Figure 3 KEGG enrichment analysis of SCMs in ‘Fuyun 6’ and ‘Fuhuang 2’.

戊糖途径等。这些结果表明在‘福黄 2 号’中为应对外部环境胁迫，在黄化叶片中可能发生大规模代谢重编事件。

### 2.3 ‘福黄 2 号’芽叶转录组分析

#### 2.3.1 ‘福黄 2 号’转录组数据质量分析及差异表达基因筛选

如表 2 所示，在‘福云 6 号’和‘福黄 2 号’获得的序列数据质量好，其中过滤序列 Q20 在

96.09%以上，Q30 在 89.29%以上，整体测序错误率在 0.03%，可用于后续分析，并筛选( $|\log_2 \text{fold change}| \geq 1$ ，且  $\text{FDR} < 0.05$ ) 出 658 个差异表达基因，包括 283 个上调基因和 376 个下调基因。

#### 2.3.2 ‘福黄 2 号’差异表达基因 KEGG 功能富集分析

‘福云 6 号’和‘福黄 2 号’差异表达基因共富集到 86 条途径 (图 4)。差异表达基因主要富集到碳

表 2 ‘福云 6 号’ (GF-6) 和‘福黄 2 号’ (YF-6) 转录组数据

Table 2 The transcriptome data of ‘Fuyun 6’ and ‘Fuhuang 2’

Sample	Raw reads	Clean reads	Clean base (G)	Error rate (%)	Q20 (%)	Q30 (%)	GC content (%)
GF-6-1	49 101 520	48 091 016	7.21	0.03	96.52	90.16	44.93
GF-6-2	45 410 156	44 409 254	6.66	0.03	96.42	89.99	44.77
GF-6-3	48 141 540	47 228 224	7.08	0.03	96.45	90.03	44.76
YF-6-1	46 992 978	46 053 770	6.91	0.03	96.26	89.65	44.20
YF-6-2	47 683 114	46 663 040	7.00	0.03	96.49	90.07	44.70
YF-6-3	51 634 474	50 410 604	7.56	0.03	96.09	89.29	44.53
Total	288 963 782	282 855 908	42.42				

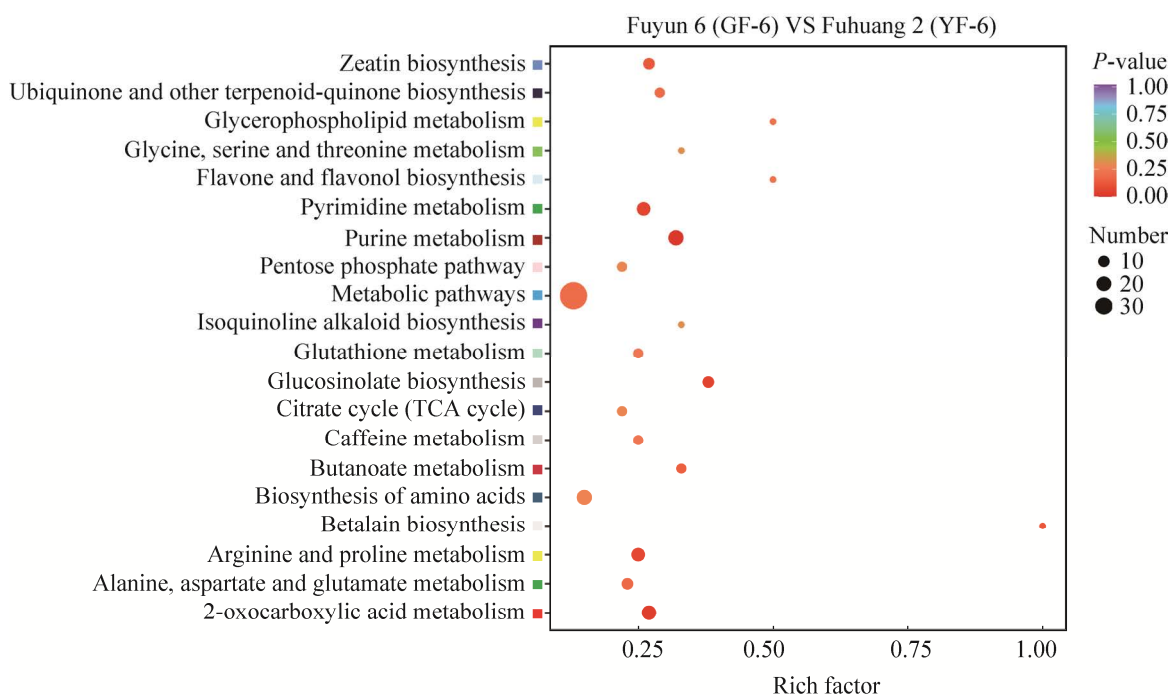


图 4 差异表达基因 KEGG 富集分析

Figure 4 KEGG enrichment analysis of DEGs.



氮相关的途径,包括:内质网中的蛋白质加工、氮代谢、苯丙氨酸代谢、聚糖生物合成等途径,这些途径与差异代谢物的分类密切相关,暗示了茶树黄化的产生与代谢物和基因调控密切相关。

### 2.3.3 ‘福黄 2 号’差异表达基因 RT-qPCR 验证分析

为验证转录组数据的可靠性,选取 6 个差异表达基因,进行 qRT-PCR 验证(表 1,图 5)。将荧光定量表达水平与转录组基因表达丰度进行  $\text{Log}_2$  转换后,结果发现,荧光定量表达与转录组基因表达的变化趋势相同,转录组数据具有可靠性。

### 2.4 ‘福黄 2 号’生化成分含量分析

对‘福黄 2 号’芽叶游离氨基酸进行靶向测定,共鉴定到 20 种游离氨基酸、5 种儿茶素和 2 种生物碱,色谱图已提交国家微生物科学数据中心(编号:NMDCX0000139)。20 种游离氨基酸在‘福黄 2 号’中含量上调,包括茶氨酸、天冬氨酸、精氨酸等在‘福黄 2 号’中均显著高于‘福云 6 号’,尤其是茶氨酸,达到 57.37 mg/g(表 3)。对 8 种儿茶素进行测定,共检测出 5 种,包括儿茶素(catechin, C)、表没食子儿茶素(epigallocatechin, EGC)、

表儿茶素没食子酸酯(epicatechin gallate, ECG)、表儿茶素(epicatechin, EC)、表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallic acid, EGCG),其中黄化种 EGC 和 EC 含量显著高于绿叶品种。在‘福黄 2 号’中可可碱含量显著低于‘福云 6 号’,咖啡碱含量的差异未达到显著水平。

### 2.5 ‘福黄 2 号’DEGs 和 SCMs 的联合分析

#### 2.5.1 色素代谢相关的 DEGs 和 SCMs 联合分析

叶绿素、类胡萝卜素和类黄酮对茶树叶片色泽有影响。本研究测定了‘福云 6 号’和‘福黄 2 号’的叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量,结果如图 6A 所示,‘福黄 2 号’的叶绿素 a、叶绿素 b 和总叶绿素含量较‘福云 6 号’显著下降,正常绿叶表型的形成主要由叶绿素含量决定。在叶绿素合成途径中,谷氨酰 tRNA 还原酶(glutamyl-tRNA reductase, HEMA)表达量显著下调,下调约 1/3,叶绿素酶(chlorophyllase, CLH)表达水平显著上调,上调 4.32 倍(图 7A)。CLH 是编码叶绿素降解相关的酶基因,其表达显著上调影响叶绿素的合成降解效率,是茶树叶色发生变化的重要原因。

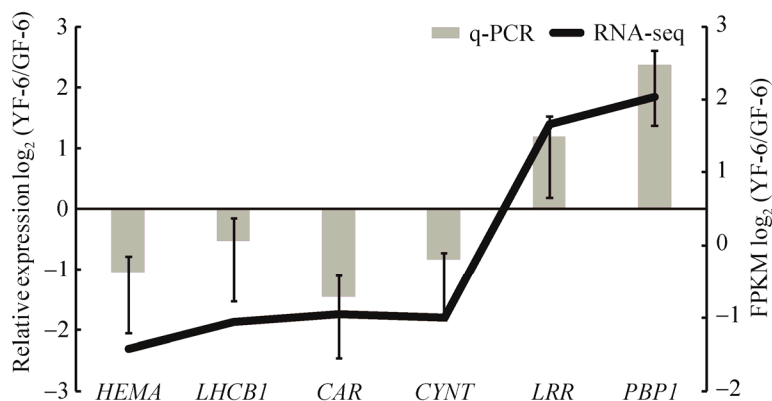


图 5 ‘福云 6 号’和‘福黄 2 号’6 个差异表达基因的表达水平验证

Figure 5 Verification of expression levels of 6 differentially expressed genes in ‘Fuyun 6’ and ‘Fuhuang 2’.

类胡萝卜素是植物中另一种重要的捕光色素。类胡萝卜素总量和类胡萝卜素各组分进行测定, 其结果表明, ‘福黄 2 号’中的  $\alpha$ -胡萝卜素、花药黄质和新黄质的含量显著下降, 角

黄质和玉米黄质的含量显著增加, 海胆烯酮的含量上升但未达到显著水平 (图 6B), 但总含量未达到显著差异水平 (图 6A)。在类胡萝卜素生物合成途径中 (图 7B), 发现 9-顺式-环氧

表 3 ‘福云 6 号’和‘福黄 2 号’的主要生化成分含量 (mg/g)

Table 3 Biochemical content of ‘Fuyun 6’ and ‘Fuhuang 2’

Content	Fuyun 6	Fuhuang 2	Content	Fuyun 6	Fuhuang 2
GABA	0.11±0.01 <sup>b</sup>	0.58±0.04 <sup>a</sup>	Valine	0.12±0.01 <sup>a</sup>	0.27±0.03 <sup>a</sup>
$\beta$ -ABA	0.13±0.01 <sup>b</sup>	0.26±0.02 <sup>a</sup>	Isoleucine	0.15±0.02 <sup>b</sup>	0.40±0.06 <sup>a</sup>
Alanine	0.30±0.03 <sup>b</sup>	0.86±0.12 <sup>a</sup>	Histidine	0.07±0.01 <sup>b</sup>	0.27±0.01 <sup>a</sup>
Theanine	27.88±2.30 <sup>b</sup>	57.37±1.95 <sup>a</sup>	Glycine	0.05±0.01 <sup>b</sup>	0.12±0.01 <sup>a</sup>
Proline	0.24±0.02 <sup>b</sup>	1.15±0.19 <sup>a</sup>	Glutamate	2.30±0.20 <sup>b</sup>	4.75±0.16 <sup>a</sup>
Lysine	0.18±0.03 <sup>b</sup>	0.76±0.10 <sup>a</sup>	Glutamine	0.89±0.12 <sup>b</sup>	2.92±0.30 <sup>a</sup>
Tyrosine	0.22±0.01 <sup>a</sup>	0.30±0.03 <sup>a</sup>	Arginine	0.15±0.02 <sup>b</sup>	3.28±0.41 <sup>a</sup>
Leucine	0.15±0.02 <sup>b</sup>	0.37±0.04 <sup>a</sup>	Serine	0.84±0.19 <sup>b</sup>	2.85±0.24 <sup>a</sup>
Tryptophan	0.33±0.01 <sup>a</sup>	0.24±0.02 <sup>a</sup>	Asparagine	0.14±0.01 <sup>b</sup>	0.57±0.04 <sup>a</sup>
Threonine	0.22±0.03 <sup>b</sup>	0.80±0.10 <sup>a</sup>	Total	34.77±3.08 <sup>b</sup>	82.07±3.86 <sup>a</sup>
Aspartate	0.30±0.08 <sup>b</sup>	4.01±0.28 <sup>a</sup>	EGC	13.00±0.97 <sup>b</sup>	27.32±3.36 <sup>a</sup>
C	2.67±0.21 <sup>a</sup>	2.03±0.49 <sup>a</sup>	EC	11.78±0.37 <sup>b</sup>	15.59±0.39 <sup>a</sup>
ECG	23.96±0.83 <sup>a</sup>	18.37±0.80 <sup>b</sup>	Total	88.15±3.74 <sup>b</sup>	99.67±4.12 <sup>a</sup>
EGCG	36.74±1.44 <sup>a</sup>	36.36±0.67 <sup>a</sup>	Total	24.38±4.01 <sup>a</sup>	20.60±0.60 <sup>a</sup>
Theobromine	1.55±0.11 <sup>a</sup>	0.22±0.01 <sup>b</sup>			
Caffeine	22.82±3.90 <sup>a</sup>	22.62±1.11 <sup>a</sup>			

a, b: indicated significant difference at the  $P<0.05$  level.

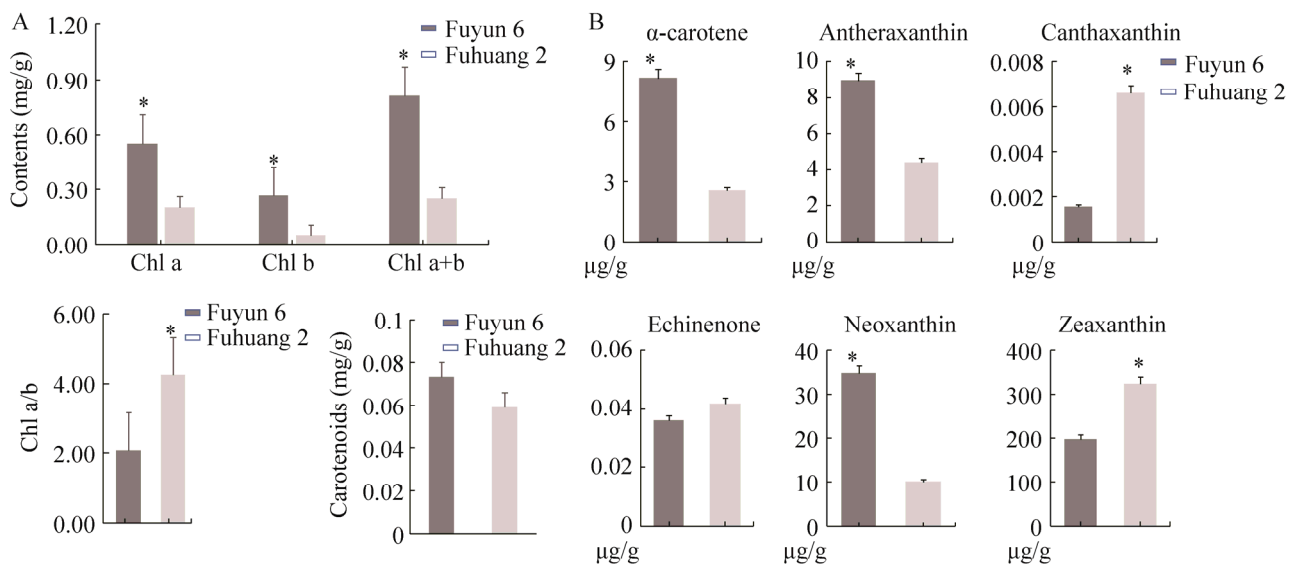


图 6 ‘福云 6 号’和‘福黄 2 号’叶绿素和类胡萝卜素含量比较 \* : 表示在  $P<0.05$  水平上差异显著

Figure 6 Comparison of chlorophyll and carotenoid pigment content between ‘Fuyun 6’ and ‘Fuhuang 2’. \*: indicated significant difference at the  $P<0.05$  level.

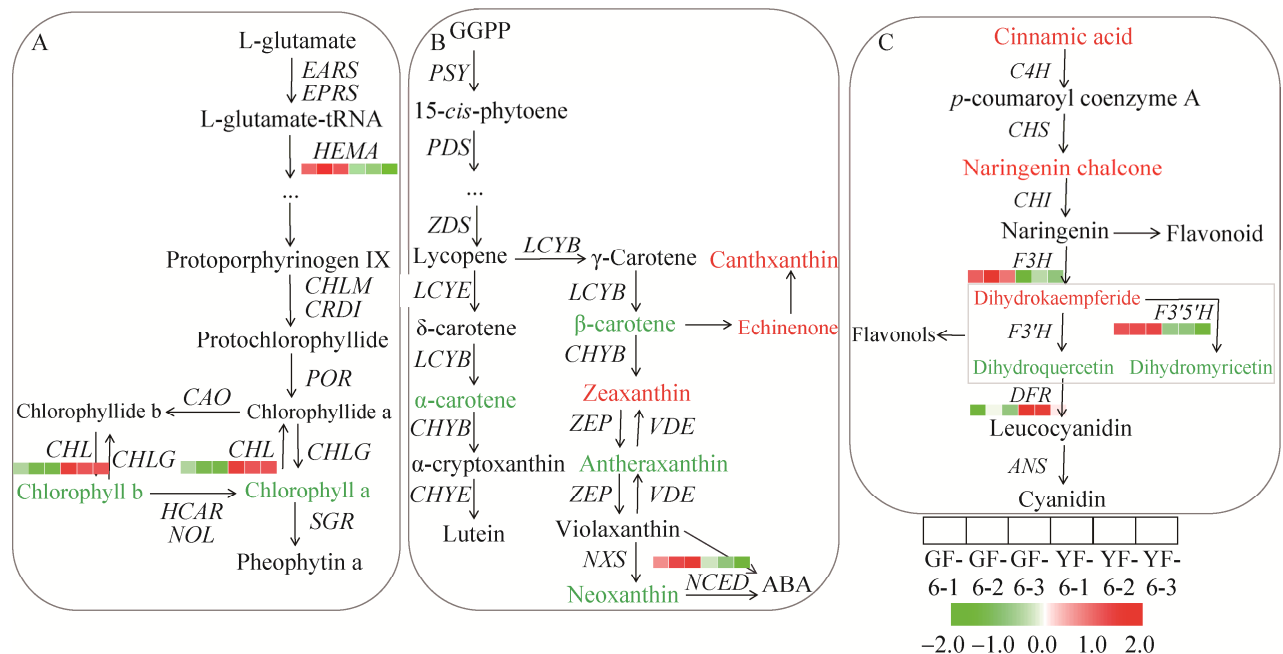


图7 ‘福云6号’和‘福黄2号’叶绿素、类胡萝卜素及类黄酮生物合成通路分析 红色代表上调代谢物，绿色代表下调代谢物

Figure 7 Analysis of chlorophyll, carotenoid and flavonoid biosynthesis pathway ‘Fuyun 6’ and ‘Fuhuang 2’. Red represents up-regulated genes/metabolites, green represents down-regulated genes/metabolites.

类胡萝卜素双加氧酶 (9-*cis*-epoxycarotenoid dioxygenase, *NCED*) 的表达显著下调，可能会调节类胡萝卜素的降解。

类黄酮代谢途径中，与‘福云6号’相比，‘福黄2号’中关键合成前体肉桂酸的表达提高了3倍(图7C)。随后的合成步骤，包括柚皮苷查尔酮和二氢山奈素，以及大多数类黄酮化合物(类黄酮、黄烷酮和黄酮醇)(数据已提交国家微生物科学数据中心(编号：NMDCX0000139))在‘福黄2号’中明显积累。类黄酮生物合成途径相关的差异表达基因发生变化，类黄酮3β-羟化酶(flavonoid 3β-hydroxylase, *F3H*)和类黄酮3',5'-羟化酶(flavonoid 3',5'-hydroxylase, *F3'5'H*)是类黄酮合成途径的关键酶，表达显著下降，分别下调了17/25、1/2，二氢黄烷醇4-还原酶

(dihydroflavanol 4-reductase, *DFR*) 的表达显著上调，上调了1.80倍。

### 2.5.2 光合作用相关的DEGs和SCMs联合分析

黄化茶树中与光合作用相关的DEGs表达水平发生差异变化(图8)。*LHCA*和*LHCB*是叶绿素a和叶绿素b的结合蛋白基因(light-harvesting complex II chlorophyll a/b binding protein, *LHCA*和*LHCB*)，并能激发能量转移到光系统I(photosystem I, PS I)和光系统II(photosystem II, PS II)的反应中心，在‘福黄2号’中表达水平显著降低。此外，与PS I反应中心相关的10个DEGs：铁氧还蛋白-NADP<sup>+</sup>还原酶(ferredoxin-NADP<sup>+</sup> reductase, *PETH*)3个，铁氧还蛋白酶(ferredoxin, *PETF*)7个，与PS II反应中心相关的6个DEGs：光系统II CP47 叶绿素脂蛋白(photosystem II

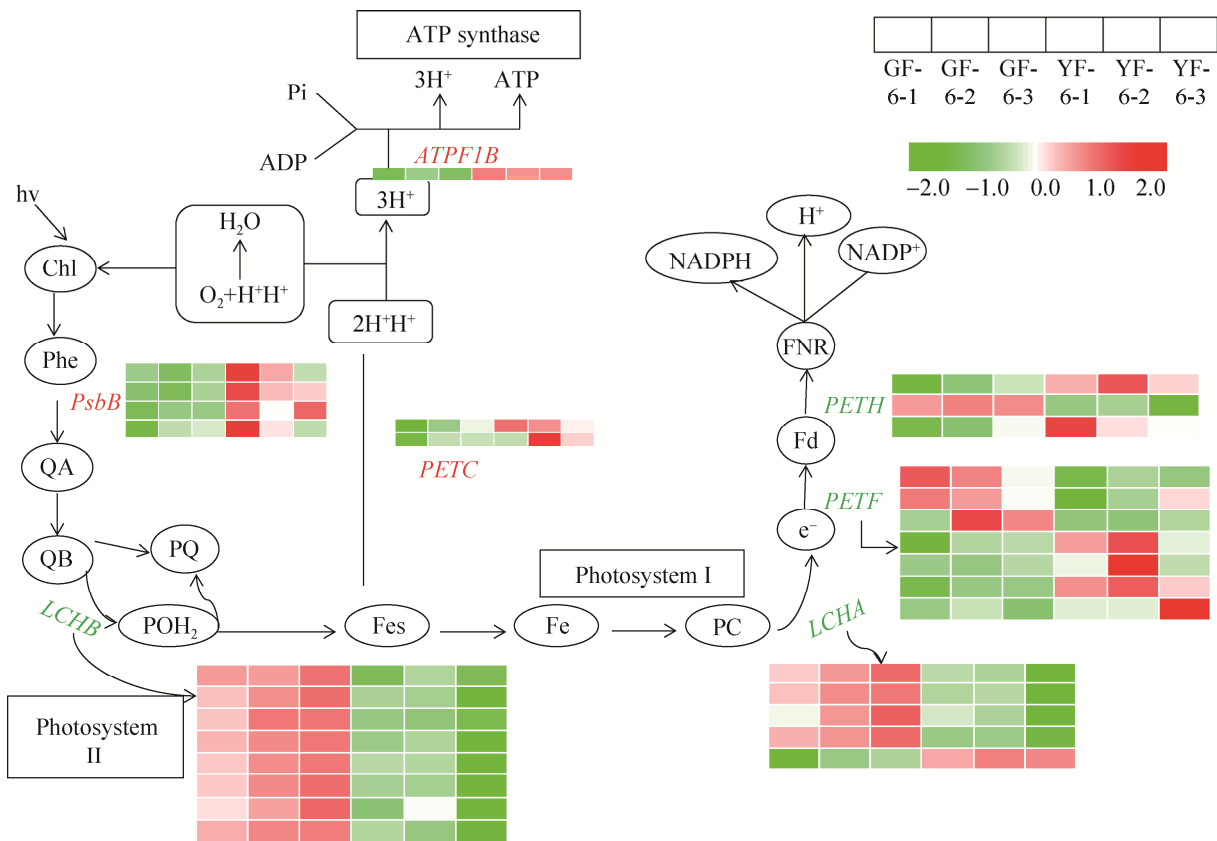


图 8 ‘福云 6 号’和‘福黄 2 号’光合作用通路分析

Figure 8 Analysis of photosynthesis pathway of ‘Fuyun 6’ and ‘Fuhuang 2’.

CP47 chlorophyll apoprotein, *PsbB*) 4 个, 细胞色素 b6-f 复合铁硫亚基 (cytochrome b6-f complex iron-sulfur subunit, *PETC*) 2 个, 与正常绿叶相比, 黄化种中的表达水平发生变化。

### 2.5.3 氨基酸途径及其他代谢途径相关的 DEGs 和 SCMs 联合分析

图 9 为一个简化的氨基酸代谢网络, 说明了黄化茶树突变体氨基酸代谢的紊乱。参与氨基酸合成途径的相关差异表达基因呈上调趋势, 谷氨酸脱羧酶 (glutamate decarboxylase, *GAD*) 是  $\gamma$ -氨基丁酸 ( $\gamma$ -aminobutyric acid, GABA) 合成途径中重要酶, 其表达上调。谷氨酰胺合成酶 (glutamine synthase, *GLU*)、酰胺酶 (amidase, *AMIE*) 等表达均在黄化种中上调。

通过结合差异代谢物和差异表达基因的 KEGG 富集分析, 发现与‘福云 6 号’相比, ‘福黄 2 号’中与碳骨架相关的物质积累均下降 (表 4), 包括淀粉和蔗糖代谢、糖酵解、类黄酮途径。蔗糖合酶、海藻糖 6-磷酸、果糖二磷酸醛缩酶表达显著下调, D-果糖-1,6-二磷酸、木糖醇、半乳糖醇、阿东糖醇、D-甘露醇含量显著下降。叶绿素和其他含氮分子生物合成减少, 如表 4 所示, 嘌呤代谢、嘧啶代谢等氮素代谢途径中相关的代谢物和差异表达基因下调 (表 4)。与苯丙烷生物合成和苯丙氨酸代谢相关的 3 个差异表达基因和 2 个差异代谢物的水平显著降低。在谷胱甘肽代谢途径中,  $\gamma$ -谷氨酰半胱氨酸合成酶 ( $\gamma$ -glutamylcysteine synthase, *GCLC*)

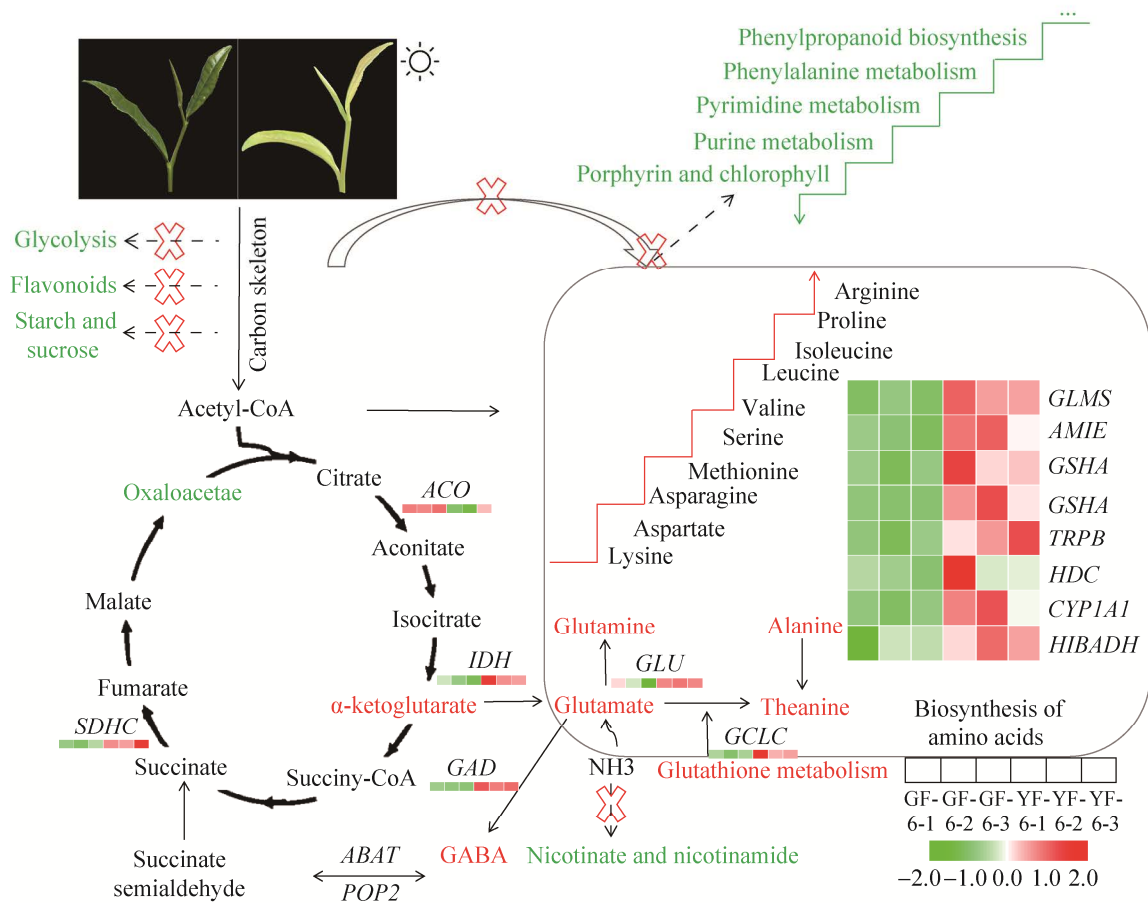


图9 ‘福云6号’和‘福黄2号’氨基酸通路分析

Figure 9 Analysis of amino acid pathway of ‘Fuyun 6’ and ‘Fuhuang 2’.

的转录水平上调了 1.50 倍，脱氢抗坏血酸也显著增加了 1.68 倍。有趣的是，在三羧酸循环途径中，观察到乌头酸水合酶和草酰乙酸呈现下调，而异柠檬酸脱氢酶和  $\alpha$ -酮戊二酸上调，其中  $\alpha$ -酮戊二酸含量的上调与氨基酸合成途径密切相关。

### 3 讨论

#### 3.1 ‘福黄2号’的叶色变异机理分析

植物叶片的色泽与叶绿体的发育和分裂，以及叶绿素的生物合成和运输相关<sup>[24]</sup>。‘福黄2号’是茶树‘福云6号’自然黄化突变种，新梢呈现黄色表型。对其进行超微结构观察，

发现黄化叶片较绿叶而言，细胞结构模糊，细胞膜发育不完整，脱离细胞壁，游离在细胞内，并产生较多液泡（空泡），叶绿体结构发育不良，基粒片层大部分排列散乱、间隙大，类囊体呈丝状。研究表明，类囊体膜规则排列并堆积成基粒的叶绿体是植物光能吸收与转化的重要场所，大多数叶色突变体类囊体膜存在变异，银杏叶片中含有破裂的类囊体膜，形成分散的液泡<sup>[25]</sup>。因此，叶片黄化表型的产生可能与叶绿体发育异常有关。植物叶片颜色还受到色素的影响，叶绿素和类胡萝卜素是以光捕获能量的主要色素<sup>[6]</sup>。叶绿素代谢是导致黄化表型的重要因素之一，许多叶绿素缺乏的叶色突变体的

表 4 其他代谢途径中涉及的 DEG 和 SCM

Table 4 DEGs and SCMs involved in other metabolic pathways

Pathway name	ko ID	Genes (log <sub>2</sub> fold change)	Metabolites (log <sub>2</sub> fold change)
Glutathione metabolism	ko00480	g-glutamylcysteine synthetase (1.50)	Dehydroascorbic acid (1.68)
Purine metabolism	ko00230	Adenylyate cyclase (-4.43)	Adenosine (-2.12) Cyclic 3',5'-adenylic acid (-1.04) Adenosine 5'-mono phosphate (-2.95) 3'-adenylic Acid (-1.27) 2'-deoxya denosine-5'-monophosphat (-1.61) Guanosine 5'-mon ophosphate (-2.38) Inosine 5'-monophosphate (-2.87)
Pyrimidine metabolism	ko00240	Uridine kinase (1.89) Carbamoyl-phosphate synthase (-1.05)	Cytidine 5'-monophosphate (-2.23) Uridine 5'-monophosphate (-1.54) Uridine (-1.13) 2-deoxyribose-1-phosphate (-2.37) Orotic acid (-2.92)
Starch and sucrose metabolism	ko00500	Sucrose synthase (1.98) Trehalose 6-phosphate phosphatase (-1.32)	
Glycolysis/ gluconeogenesis	ko00010	Fructose-bisphosphate aldolase (-0.19)	D-fructose-1,6-biphosphate (-1.19) Xylitol (-0.90) Dulcitol* (-0.69) Ribitol* (-1.64) D-mannitol* (-1.39)
Phenylalanine metabolism	ko00360	Primary-amine oxidase (-1.20)	L-tyrosine (-1.38) L-phenylalanine (-0.66)
Phenylpropanoid biosynthesis	ko00940	Shikimate O-hydroxycinnamoyltransferase (-1.43) Scopoletin glucosyltransferase (-1.31)	L-tyrosine (-1.38) Sinapinaldehyde (-1.04)
Nitrogen metabolism	ko00910	Carbonic anhydrase (CYNT) (-1.10) Carbonic anhydrase (CAH) (-2.23)	
Citrate cycle (TCA cycle)	ko00020	Aconitate hydratase (-0.41) Isocitrate dehydrogenase (0.62)	Oxaloacetic acid (-1.62) $\alpha$ -ketoglutaric acid (1.16)

表型是由参与叶绿素生物合成的基因表达改变引起的<sup>[25]</sup>。色素测定分析表明,‘白叶 1 号’‘黄叶肉桂’‘黄金水仙’‘福黄 1 号’等黄化茶树中叶绿素 a 和叶绿素 b 含量降低<sup>[4,14,26-27]</sup>,这与本研究结果一致,‘福黄 2 号’叶绿素 a 和叶绿素 b 显著低于‘福云 6 号’,且参与叶绿素代谢途径的基因在黄叶中也表现出不同表达水平,其中编码叶绿素降解相关酶 *CHL* 在黄叶中显著上调,上调 4.32 倍,这与在‘白叶 1 号’的研究相似<sup>[26]</sup>。这暗示了 *CHL* 在‘福黄 2 号’叶绿素降解过程中加快了叶绿素的降

解效率,从而使得叶绿素 a 和 b 含量在黄叶中显著下降。

光合作用发生在叶绿体中,叶绿体的异常发育和叶绿素生物合成的改变可能会影响‘福黄 2 号’的光合能力。黄化种中与光合作用相关的 DEGs 表达水平差异变化(图 8), *LHCA* 和 *LHCB* 是叶绿素 a 和 b 的结合蛋白基因,在‘福黄 2 号’中表达水平显著降低。此外,与 PS I 反应中心相关的 10 个 DEGs 和与 PS II 反应中心相关的 6 个 DEGs 在黄化种中的表达水

平发生变化。PS I、PS II 和细胞色素 b6/f 参与光反应，这是光合作用的初始阶段，LHC 在 PS I 和 PS II 的捕光中起着重要作用。在拟南芥中 LHC 表达减少导致叶绿体中基粒堆积受损<sup>[28]</sup>。‘中黄 1 号’也观察到 LHC 基因的下调可能导致叶绿体发育异常和叶绿素含量降低<sup>[9]</sup>。由此推测，‘福黄 2 号’黄化表型可能是光合作用蛋白、叶绿素代谢基因和叶绿素含量的缺乏所致。

### 3.2 ‘福黄 2 号’高茶氨酸代谢机理分析

氨基酸合成主要在叶绿体中<sup>[29]</sup>，黄化茶树中叶绿体结构缺失破坏了碳氮平衡，进而导致游离氨基酸的积累。通过对‘福黄 2 号’和‘福云 6 号’研究发现，叶绿体发育异常 (图 1)、类黄酮含量降低、光合作用受损 (图 8)、碳水化合物含量降低以及游离氨基酸积累 (图 9 和表 4)，这表明了在‘福黄 2 号’叶片中与碳、氮代谢相关的途径受到抑制或者加强，叶片中碳氮失衡。已有研究表明，光合速率和碳代谢降低使得氮代谢增强<sup>[30]</sup>。而在‘黄金芽’的研究中也发现，黄化茶树处于缺碳状态，TCA 循环被激活，氮积累和碳供应短缺共同作用引起蛋白质降解，膜结构的破坏和大分子的分解导致了细胞的自噬，从而增加了黄化叶片中氨基酸的含量<sup>[3]</sup>。茶树叶片的主要含氮化合物是蛋白质、叶绿素和咖啡碱<sup>[31-32]</sup>。‘福黄 2 号’和‘福云 6 号’的咖啡碱含量较高，但两者间的差异未达到显著水平，这表明咖啡碱不是黄化茶树中氮消耗的一个因素。在‘福黄 2 号’中苯丙氨酸代谢、苯丙素生物合成等氮素代谢途径表达呈下调，氮源消耗降低。 $\alpha$ -酮戊二酸在黄化茶树中能够促进氮元素的再循环，其含量在‘福黄 2 号’中显著上升，参与氨基酸合成途径的相关差异基因呈上调趋势 (图 9)，如谷氨酸脱羧酶 (*GAD*)、谷氨酰胺合成酶 (*GLU*)、酰胺酶 (*AMIE*)，茶氨酸、精氨

酸、谷氨酸、谷氨酰胺等游离氨基酸含量显著上升，尤其是茶氨酸含量达到 53.37 mg/g。在茶树中，谷氨酸是茶氨酸的合成前体之一，当谷氨酸含量积累，会加速茶氨酸的合成，这暗示了在‘福黄 2 号’中游离氨基酸的积累可能是低氮消耗，如叶绿素和其他含氮分子生物合成减少，氮源积累被用于氨基酸合成，茶氨酸显著积累<sup>[33-34]</sup>。

## 4 结论

本研究以‘福云 6 号’ (GF-6) 及其黄化品系‘福黄 2 号’ (YF-6) 为供试材料，利用多组学联合分析茶树叶色黄化和高茶氨酸积累的潜在分子机制。其中，‘福黄 2 号’黄化表型可能是光合作用蛋白、叶绿素代谢基因和叶绿素含量的缺乏所致。具有较高含量的茶氨酸以及其他多种游离氨基酸，其积累可能是氮资源、氨基在叶片中被更有效储存，使得氨基酸合成通路中的代谢物及相关基因表达上调，茶氨酸成为黄化叶中显著积累的含氮化合物。高茶氨酸黄化茶树新品系‘福黄 2 号’具有科学研究与利用价值，采用多组学技术探究黄化变异形成的机制，为高茶氨酸茶树资源选育提供新的材料。

## REFERENCES

- [1] Ma QP, Li H, Zou ZW, et al. Transcriptomic analyses identify albino-associated genes of a novel albino tea germplasm ‘Huabai 1’. *Hortic Res*, 2018, 5: 54.
- [2] Wei K, Wang LY, Zhou J, et al. Comparison of catechins and purine alkaloids in albino and normal green tea cultivars (*Camellia sinensis* L.) by HPLC. *Food Chem*, 2012, 130(3): 720-724.
- [3] Zhang QF, Liu MY, Ruan JY. Integrated transcriptome and metabolic analyses reveals novel insights into free amino acid metabolism in Huangjinya tea cultivar. *Front Plant Sci*, 2017, 8: 291.

- [4] Wang PJ, Yu JX, Jin S, et al. Genetic basis of high aroma and stress tolerance in the oolong tea cultivar genome. *Hortic Res*, 2021, 8(1): 107.
- [5] Zhang CY, Wang MH, Gao XZ, et al. Multi-omics research in albino tea plants: past, present, and future. *Sci Hortic*, 2020, 261: 108943.
- [6] Zheng YC, Wang PJ, Chen XJ, et al. Integrated transcriptomics and metabolomics provide novel insight into changes in specialized metabolites in an albino tea cultivar (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntz). *Plant Physiol Biochem*, 2021, 160: 27-36.
- [7] Song LB, Ma QP, Zou ZW, et al. Molecular link between leaf coloration and gene expression of flavonoid and carotenoid biosynthesis in *Camellia sinensis* cultivar ‘Huangjinya’. *Front Plant Sci*, 2017, 8: 803.
- [8] Wang L, Yue C, Cao HL, et al. Biochemical and transcriptome analyses of a novel chlorophyll-deficient chlorina tea plant cultivar. *BMC Plant Biol*, 2014, 14: 352.
- [9] Wang L, Cao HL, Chen CS, et al. Complementary transcriptomic and proteomic analyses of a chlorophyll-deficient tea plant cultivar reveal multiple metabolic pathway changes. *J Proteom*, 2016, 130: 160-169.
- [10] Robb CS, Brown PR. Catechins in tea: chemistry and analysis. *Adv Chromatogr*, 2001, 41: 379-410.
- [11] 方开星, 姜晓辉, 吴华玲. 茶树茶氨酸的代谢及其育种研究进展. *园艺学报*, 2016, 43(9): 1791-1802.  
Fang KX, Jiang XH, Wu HL. Research progress on theanine metabolism and its content breeding in tea. *Acta Hortic Sin*, 2016, 43(9): 1791-1802 (in Chinese).
- [12] Türközü D, Şanlıer N. L-theanine, unique amino acid of tea, and its metabolism, health effects, and safety. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2017, 57(8): 1681-1687.
- [13] Hao XY, Zhang WF, Liu Y, et al. Pale green mutant analyses reveal the importance of *CsGLKs* in chloroplast developmental regulation and their effects on flavonoid biosynthesis in tea plant. *Plant Physiol Biochem*, 2020, 146: 392-402.
- [14] Wang PJ, Zheng YC, Guo YC, et al. Widely targeted metabolomic and transcriptomic analyses of a novel albino tea mutant of “Rougui”. *Forests*, 2020, 11(2): 229.
- [15] 林馨颖, 王鹏杰, 刘仕章, 等. 茶树黄化种——黄叶肉桂的类胡萝卜素组分分析. *茶叶学报*, 2020, 61(3): 120-126.  
Lin XY, Wang PJ, Liu SZ, et al. Carotenoids in Huangye Rougui tea plant. *Acta Tea Sin*, 2020, 61(3): 120-126 (in Chinese).
- [16] 陈思彤, 赵峰, 王淑燕, 等. 基于 AQC 衍生和液质联用的茶叶游离氨基酸分析. *南方农业学报*, 2019, 50(10): 2278-2285.  
Chen SR, Zhao F, Wang SY, et al. Analysis of free amino acids in tea based on AQC derivation with liquid chromatography-mass spectrometry. *J South Agric*, 2019, 50(10): 2278-2285 (in Chinese).
- [17] 陈潇敏, 赵峰, 金珊, 等. 福建云霄地方茶树品种资源生化成分特征分析与评价. *西北植物学报*, 2022, 42(1): 127-137.  
Chen XM, Zhao F, Jin S, et al. Analysis and evaluation on biochemical components of local tea variety resources in Yunxiao, Fujian. *Acta Bot Borealia Occidentalia Sin*, 2022, 42(1): 127-137 (in Chinese).
- [18] Lin XY, Chen XJ, Wang PJ, et al. Metabolite profiling in albino tea mutant *Camellia sinensis* ‘Fuyun 6’ using LC-ESI-MS/MS. *Trees*, 2022, 36(1): 261-272.
- [19] Zheng YC, Wang PJ, Chen XJ, et al. Transcriptome and metabolite profiling reveal novel insights into volatile heterosis in the tea plant (*Camellia sinensis*). *Molecules*, 2019, 24(18): 3380.
- [20] Love MI, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-Seq data with DESeq2. *Genome Biol*, 2014, 15(12): 550.
- [21] Yu GC, Wang LG, Han YY, et al. ClusterProfiler: an R package for comparing biological themes among gene clusters. *OMICS*, 2012, 16(5): 284-287.
- [22] 谷梦雅, 王鹏杰, 金珊, 等. 基于转录组分析不同强度红光对茶树苯丙烷类代谢的影响. *应用与环境生物学报*, 2021, 27(6): 1636-1644.  
Gu MY, Wang PJ, Jin S, et al. Effects of different red LED light intensities on phenylpropanoid metabolism of tea plants based on transcriptomics. *Chin J Appl Environ Biol*, 2021, 27(6): 1636-1644 (in Chinese).
- [23] 林馨颖, 王鹏杰, 陈雪津, 等. 茶树 *LOX* 基因家族的鉴定及其在白茶萎凋过程的表达分析. *茶叶科学*, 2021, 41(4): 482-496.  
Lin XY, Wang PJ, Chen XJ, et al. Identification of *LOX* gene family in *Camellia sinensis* and expression analysis in the process of white tea withering. *J Tea Sci*,



2021, 41(4): 482-496 (in Chinese).

- [24] Yang YX, Chen XX, Xu B, et al. Phenotype and transcriptome analysis reveals chloroplast development and pigment biosynthesis together influenced the leaf color formation in mutants of *Anthurium andraeanum* 'Sonate'. *Front Plant Sci*, 2015, 6: 139.
- [25] Li WX, Yang SB, Lu ZG, et al. Cytological, physiological, and transcriptomic analyses of golden leaf coloration in *Ginkgo biloba* L.. *Hortic Res*, 2018, 5: 797-810.
- [26] Li CF, Xu YX, Ma JQ, et al. Biochemical and transcriptomic analyses reveal different metabolite biosynthesis profiles among three color and developmental stages in 'Anji Baicha' (*Camellia sinensis*). *BMC Plant Biol*, 2016, 16(1): 195.
- [27] 林馨颖, 王鹏杰, 杨如兴, 等. 高茶氨酸茶树新品系 '福黄 1 号' 黄化变异机理. *中国农业科学*, 2022, 55(9): 1831-1845.
- Lin XY, Wang PJ, Yang RX, et al. The albino mechanism of a new high theanine tea cultivar Fuhuang 1. *Sci Agric Sin*, 2022, 55(9): 1831-1845. (in Chinese)
- [28] Kim EH, Li XP, Razeghifard R, et al. The multiple roles of light-harvesting chlorophyll a/b-protein complexes define structure and optimize function of *Arabidopsis* chloroplasts: a study using two chlorophyll b-less mutants. *Biochim Biophys Acta BBA Bioenerg*, 2009, 1787(8): 973-984.
- [29] Hildebrandt TM, Nunes Nesi A, Araújo WL, et al. Amino acid catabolism in plants. *Mol Plant*, 2015, 8(11): 1563-1579.
- [30] Satou M, Enoki H, Oikawa A, et al. Integrated analysis of transcriptome and metabolome of *Arabidopsis* albino or pale green mutants with disrupted nuclear-encoded chloroplast proteins. *Plant Mol Biol*, 2014, 85(4/5): 411-428.
- [31] Yamashita H, Kambe Y, Ohshio M, et al. Integrated metabolome and transcriptome analyses reveal etiolation-induced metabolic changes leading to high amino acid contents in a light-sensitive Japanese albino tea cultivar. *Front Plant Sci*, 2021, 11: 611140.
- [32] Jiang XF, Zhao H, Guo F, et al. Transcriptomic analysis reveals mechanism of light-sensitive albinism in tea plant *Camellia sinensis* 'Huangjinju'. *BMC Plant Biol*, 2020, 20(1): 216.
- [33] Coschigano KT, Oliveira IC, et al. The molecular-genetics of nitrogen assimilation into amino acids in higher plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1996, 47: 569-593.
- [34] Ruan J, Haerdter R, Gerendás J. Impact of nitrogen supply on carbon/nitrogen allocation: a case study on amino acids and catechins in green tea [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze] plants. *Plant Biol (Stuttg)*, 2010, 12(5): 724-734.

(本文责编 陈宏宇)