doi:10.3969/j.issn.1001-4616.2026.03.010

缺硝态氮胁迫茶树根尖转录组及调控网络解析

陈琴琴[1,2],方辉韩[3],李清声[2],卢秦华[2],任　苧[2],李　达[2],汪瑛琦[1]

(1.浙江农林大学茶学与茶文化学院,浙江 杭州 311300)
(2.浙江省农业科学院蚕桑与茶叶研究所,浙江 杭州 310021)
(3.开化县茶产业发展中心,浙江 衢州 324300)

[**摘要**]　硝酸盐(NO_3^-)是茶树生长发育的主要氮源之一,其供应变化直接影响氮代谢稳态及品质形成. 为解析茶树响应 NO_3^- 缺乏的分子机制,本研究以“龙井 43”为材料,设置 0~12 h 时间梯度处理,结合生理指标测定、转录组测序与 qPCR 验证,系统解析其时间动态响应机制. 结果显示,茶树在短时 NO_3^- 缺乏胁迫下,叶片 *Fv/Fm* 值与游离氨基酸含量显著下降,根系 NO_3^- 与 NH_4^+ 含量同步减少,表明其光合能力与氮素代谢受限. 转录组分析进一步筛选到 2407 个差异表达基因(differentially expressed genes,DEGs),GO 和 KEGG 富集分析显示其主要富集于碳水化合物代谢、胁迫响应、苯丙烷与黄酮合成、植物激素及 MAPK 等信号通路. *CsNiR* 和 *CsNPF5.7* 硝酸还原与转运相关基因持续下调,暗示初级氮同化通路受阻;而 *CsGDH2.1* 和 *CsAS* 表达显著上调,提示茶树可能通过优化碳氮代谢与信号调控以实现快速适应. 本研究揭示了茶树在 NO_3^- 缺乏胁迫下的分子调控模式,为茶树氮高效利用机制解析与功能基因挖掘提供理论基础.

[**关键词**]　茶树,硝态氮胁迫,差异表达基因,转录组分析,游离氨基酸,氮代谢
[**中图分类号**]S571.1　[**文献标志码**]A　[**文章编号**]1001-4616(2026)03-0087-09

Transcriptome Analysis and Regulatory Network Elucidation of Tea Plants (*Camellia sinensis* L.) Root Tips Under Nitrate Deficiency Stress

Chen Qinqin[1,2],Fang Huihan[3],Li Qingsheng[2],Lu Qinhua[2],Ren Ning[2],Li Da[2],Wang Yingqi[1]

(1. College of Tea Science and Tea Culture,Zhejiang A&F University,Hangzhou 311300,China)
(2. Institute of Sericulture and Tea,Zhejiang Academy of Agricultural Sciences,Hangzhou 310021,China)
(3. Tea Industry Development Center of Kaihua Count,Quzhou 324300,China)

Abstract:Nitrate(NO_3^-)is one of the major nitrogen sources for tea plant growth and development,and fluctuations in its supply directly affect nitrogen metabolic homeostasis and tea quality formation. To elucidate the molecular mechanisms underlying the response of tea plants to NO_3^- deficiency,the cultivar “*Longjing 43*” was subjected to a time course treatment(0-12 h). Physiological measurements were integrated with transcriptome sequencing and qPCR validation to characterize the dynamic responses to NO_3^- deprivation. The results showed that short term NO_3^- deficiency significantly reduced leaf *Fv/Fm* and free amino acid contents,accompanied by simultaneous decreases in root NO_3^- and NH_4^+ contents,indicating inhibition of photosynthetic performance and nitrogen metabolism. A total of 2,407 differentially expressed genes(DEGs)were identified. GO and KEGG enrichment analyses revealed that these DEGs were mainly involved in carbohydrate metabolism,stress responses,phenylpropanoid and flavonoid biosynthesis,plant hormone and MAPK related signaling pathways. The nitrate reduction and transport related genes *CsNiR* and *CsNPF5.7* were consistently downregulated,suggesting suppression of primary nitrogen assimilation,whereas *CsGDH2.1* and *CsAS* were significantly upregulated,indicating that tea plants may enhance their tolerance to nitrogen deficiency through coordinated regulation of carbon-nitrogen metabolism and stress related signaling. This study reveals the molecular regulatory patterns of tea plants under NO_3^- deficiency and provides a theoretical basis for elucidating nitrogenuse efficiency mechanisms and identifying candidate functional genes in tea plants.

Key words:*Camellia sinensis*,nitrate deficiency,differentially expressed genes(DEGs),RNA-Seq,free amino acid,nitrogen metabolism

收稿日期:2025-11-24.
基金项目:国家自然科学基金项目(32202536)、浙江农林大学科研发展基金项目(2024FR012).
通讯作者:汪瑛琦,博士,讲师,研究方向:茶树种质创新与利用. E-mail:yqwang@zafu.edu.cn;李达,博士,助理研究员,研究方向:茶树种质创新与利用.E-mail:lida@zaas.ac.cn

茶树(*Camellia sinensis*)作为重要的多年生经济作物,其生长发育对氮、磷、钾等营养元素具有较高的需求,其中氮素是茶树重要的矿质营养元素之一. 氮素广泛参与核酸、蛋白质、叶绿素等基础物质的合成[1],同时也是新梢生长与干物质积累的关键限制因子. 在缺氮条件下,茶树通常表现出叶片黄化、厚度下降、光合能力减弱等典型症状[2],并伴随着叶绿素和蛋白质含量的减少[3]、脂质过氧化增强及膜结构损伤,从而严重抑制其生长与品质形成.

在自然生态系统中,植物可利用氮素形态常随环境条件发生波动,这一特点已在不同栽培环境与森林生态系统中得到证实[4]. 硝酸盐(NO_3^-)是植物最主要的无机氮素来源,而氮素供应的波动性意味着植物需要通过精细的调控机制维持氮代谢稳态[5]. 植物通过氮素循环获取氮源的过程主要包括生物固氮、硝酸盐的吸收与还原以及氨的同化等步骤[6],具体而言,植物首先依赖硝酸盐转运蛋白(Nitrate transporter,如 NRT1.1 和 NRT2.1)将硝酸盐从外部环境转运入细胞;随后,在硝酸还原酶(Nitrate reductase,NR)和亚硝酸还原酶(Nitrite reductase,NiR)的协同催化下,硝酸盐依次被还原为亚硝酸盐和氨;最终,氨通过谷氨酰胺合成酶(Glutamine synthetase,GS)和谷氨酸合成酶(Glutamine α-oxoglutarate aminotransferase,GOGAT)共同构成的 GS/GOGAT 循环,同化为谷氨酰胺和谷氨酸,为其他氨基酸和其他含氮代谢物的合成提供氮骨架[7]. 氮素的吸收、转运与同化依赖于高度协调的多级代谢通路[8],其调控过程涉及包括转录调控、信号传导和代谢反馈在内的复杂基因表达网络[9]. 然而,关于茶树在硝态氮限制条件下如何动态调节相关基因表达以维持氨基酸代谢稳态的分子机制,目前仍未得到系统阐明.

近年来,关于茶树氮素吸收与代谢调控的分子机制研究逐步深入,已有学者围绕硝酸盐吸收、氨基酸合成及品质代谢物调控等关键环节展开研究. 在氮源识别与吸收方面,研究表明茶树根和嫩叶在不同氮源(低氮、有机氮、适氮)处理数小时后即出现大量基因差异表达. 其中,茶树 NRT 成员 *CsNRT2.4* 与 *CsNRT2.5* 在低氮条件下明显上调,NiR 成员 *CsNiR* 在低氮和适氮处理中均增强,提示硝酸盐吸收与还原过程受精细调控[10]. 在茶树硝酸盐转运肽家族(Nitrate transporter 1/peptide transporter family,NPF)中,部分基因(如 *CsNPF2.12*、*CsNPF4.1*、*CsNPF4.8*)在缺氮条件下显著诱导,并定位于质膜,可能作为 NO_3^-跨膜转运蛋白参与氮信号感知[11]. 在氨同化与氨基酸代谢环节,谷氨酸(Glutamic acid,Glu)代谢途径被证实在茶树氮响应中占主导地位. 其中 NH_4^+-N 与乙酰胺氮可显著促进通路活性,而 NO_3^--N 与缺氮处理反应较弱,*CsAlaDC*(乙胺合成关键酶基因)、*CsTSI*(茶氨酸合成酶基因)、*CsGS* 与 *CsGOGATs* 为其关键调控基因[9]. 在氮素分配及品质代谢物调控层面,蛋白组与转录组联合分析显示,茶氨酸主要富集于根部并随氮素供给增加而升高. 缺氮时植株通过激活谷氨酸脱氢酶等途径维持谷氨酸合成并重塑品质代谢,同时 miR156 等 miRNA 负调控 *GOGAT* 与 *SAMDC*(S-Adenosylmethionine decarboxylase,S-腺苷甲硫氨酸脱羧酶)等关键基因,提示氮响应与次级代谢存在协同调控[12]. 在整合调控网络层面,Zhang 等[13]通过共表达分析构建了 16 个与氮代谢相关的模块,其中“turquoise”模块对低氮高度敏感,模块内包含 1 150 个与氮代谢相关的候选基因,包括铵转运蛋白与硝酸还原酶等,为系统解析茶树根系氮响应机制提供了潜在基因资源. 尽管已有研究在茶树氮素胁迫响应的特定环节和关键基因层面取得一定进展,但整体上仍多聚焦于单一时间点或局部代谢路径,缺乏对根系在缺氮胁迫下动态调控过程的系统性认知. 尤其是在硝酸盐吸收、转运与下游氨基酸代谢等关键过程中,功能基因间的共表达关系与调控网络尚未被系统解析. 为填补这一空白,本文以茶树品种“龙井 43”为研究材料,设置硝酸盐缺乏条件下的时间梯度处理,结合生理指标监测、转录组测序与关键基因表达验证,系统解析根系对硝态氮胁迫的动态响应特征,构建涵盖硝酸盐吸收、氨基酸代谢与转录调控的表达网络. 该研究有助于深化对茶树氮素代谢调控机制的理解,并为后续功能验证及高效氮素利用相关基因的挖掘提供理论支撑.

1 材料与方法

1.1 试验材料和处理

将一年生“龙井 43”茶树幼苗采用水培方式栽培于装有标准营养液的 5 L 黑色塑料桶中,于人工气候培养室内生长. 培养条件设定为光/暗周期各 12 h、温度(24±2)℃、相对湿度 60%±10%. 茶苗先以蒸馏水培养 7 d,随后转入 1/2 浓度营养液培养 7 d,最后转入全浓度标准营养液培养 21 d. 标准营养液配置方法参考 Li 等[14]. 预培养结束后,待新生根形成,选取根系表型一致的幼苗进行硝酸盐处理. 硝酸盐缺乏处理组(T 组)采用 1 mmol/L KCl 替换 1 mmol/L NO_3^-,设置 3 个时间点(2 h、6 h 和 12 h),每个时间点采集根系

样品,分别命名为 T2、T6 和 T12. 对照组(C 组)使用标准营养液配方培养,在相同时间点采集根系样品并分别命名为 C0、C2、C6 和 C12,每组设 3 个生物学重复. 所有样品采集后立即液氮速冻,并保存于-80 ℃超低温冰箱,用于后续转录组测序与荧光定量 PCR 验证.

1.2 生化成分含量测定

参考中华人民共和国国家标准 GB/T 8313—2013 的方法测定游离氨基酸的含量;靛酚蓝比色法测定铵态氮含量[15];水杨酸法测定硝态氮含量[16]. 使用 Handy PEA 植物效率分析仪(Hansatech,英国)对芽下第二叶 *Fv/Fm* 值(最大光化学效率)进行测定,每个生物学重复使用 5 片叶片进行测量,每个样本进行 3 次技术重复,以确保结果准确性,并使用植物叶绿素,荧光表型仪 Plant Explorer^{PRO+}(Phenovation,荷兰瓦赫宁根)采集叶片的叶绿素荧光图像.

1.3 RNA 提取、测序与数据处理

使用天根多糖多酚植物总 RNA 提取试剂盒分离提取茶树根尖总 RNA. 经检测合格后构建文库,并在 Illumina HiSeq 2500 平台进行双端测序(上海派森诺生物科技股份有限公司). 原始 reads 经过接头及低质量序列过滤后获得 clean reads,以舒茶早基因组为参考[17]进行比对,利用 HTSeq 统计各样品基因表达量,并以 FPKM 表示[18];根据 q 值<0.005 且 $|\log_2(\text{Fold Change})|>1$ 的标准筛选差异表达基因(differentially expressed genes,DEGs).

1.4 差异基因富集分析

基于筛选得到的差异表达基因及转录组注释数据,使用 TBtools 对差异基因进行 GO 和 KEGG 富集分析,并利用微生信平台(https://www.omicshare.com/)和 GraphPad Prism 10.1.2 软件绘制气泡图和柱状图,进行可视化.

1.5 荧光定量 PCR 验证

以“1.2”中的方法提取出的 RNA 为模板,用诺唯赞 HiScript ® II Q RT SuperMix for qPCR(+gDNA wiper)试剂盒逆转录成 cDNA,作为荧光定量 PCR 的模板. 以茶树 *β-actin* 基因为内参,使用 TRAN(全式金)PerfectStart ® Green qPCR SuperMix 试剂盒进行荧光定量 PCR 分析,反应体系为:2xPerfectStart ® Green qPCR SuperMix 5 μL,上下游引物各 0.2 μL,cDNA 模板 0.8 μL,Universal Passive Reference Dye 0.2 μL,加水至终体系 10 μL. 采用两步法反应程序:95 ℃预变性 30 s;94 ℃变性 5 s;60 ℃退火延伸 30 s,40 个循环. 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 分析方法计算基因的相对表达量. 引物序列见表 1.

表 1 实时荧光定量 PCR 引物

Table 1 Primers for real-time quantitative PCR

基因名称	基因编号	正向引物(5′~3′)	反向引物(5′~3′)
β-actin	CSS0008920	CTTCCTCATGCTATCCTCCGTCTT	ATTTCCCGTTCAGCAGTGGTG
CsNiR	CSS0038145	AAGTTTTCGCCCGAGCCA	TACCCGCCTCTCCACCTC
CsNR1.5	CSS0016218	GGGGCGGATCAGTTCGAC	GCCCACATTCCTCCGTCC
CsNPF5.7	CSS0012131	TTGTGGGCTCTTGCTCGG	TCCGGCACTCTGTACCGA
CsNPF5.15	CSS0040147	GACCACCTCACTGCCCAC	GCCCCGATGGTCGAGATG
CsNPF6.1	CSS0037113	CCCTCCAACCGCCCAAAT	CGGAACCGAACCCCGAAA
CsAAP7	CSS0008958	TGGGTGTGGAGTCGCCTA	ACATGAAGCCTCGTGCCC
CsLHT5	CSS0033052	CTTGGCTGGACTTGGGGG	GCTGTAGCGAGTCCCAGG
CsGDH2.1	CSS0034454	CCCGCACCAGATATGGGG	CCGGTCACAACAGCTGGT
CsAS	CSS0022909	TTGGGTTGCTCCGACGAC	TGCCAGCCGTTGATGTGT
CsGATA13	CSS0044519	CTCTGGAGAGTCGGCCCT	ACCCAGAAGTGCCCTCCT

1.6 数据分析

实验数据采用 Excel 2016、SPSS、Graphad Prism 10.1.2 等软件进行统计分析与差异显著性检验.

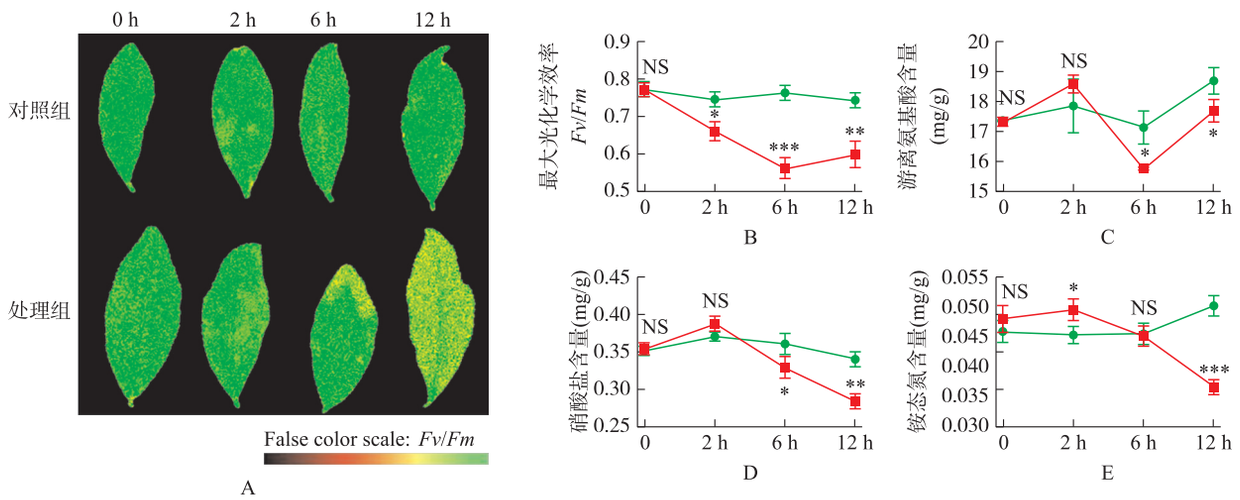
2 结果与分析

2.1 茶树对硝酸盐缺乏的生理响应特征

为进一步验证短时硝酸盐缺乏处理的生理效应及其对茶树的早期胁迫响应是否显著,本研究同步监测了处理过程中的部分表型与关键生理参数. 结果显示,缺硝态氮胁迫下茶树叶片 *Fv/Fm* 值持续下降,

12 h 时显著低于对照组,表明光合系统 II 最大光化学效率受损,茶树光合能力显著降低(图 1A,1B). 同时,叶片游离氨基酸含量显著下降,反映出氮素同化水平下降,氨基酸合成受限(图 1C).

在根系代谢层面,处理组茶树根系 NO_3^- 含量在 6 h 后明显下降,12 h 时含量显著低于对照组,提示缺硝态氮处理有效切断了外源 NO_3^- 供应,根系硝酸盐储量快速耗竭(图 1D). 同时,根系 NH_4^+ 含量也在 12 h 时显著下降,说明在外源 NO_3^- 缺失情况下,根系整体无机氮供应受限(图 1E).



A.叶片 *Fv/Fm* 荧光成像;B.叶片 *Fv/Fm* 值;C.叶片游离氨基酸含量;D.根系硝酸盐(NO_3^-)含量;E.根系铵态氮(NH_4^+)含量;各数据为(均值±标准误)($n=3$),* 表示 $P<0.05$,** 表示 $P<0.01$,*** 表示 $P<0.001$(t 检验).

图 1　茶树在硝酸盐缺乏胁迫下的生理响应特征

Fig. 1　Physiological responses of tea plants to nitrate deficiency

2.2　转录组测序质量

原始数据经过质控处理(过滤剔除带接头片段和低质量碱基片段)后,获得高质量测序读数. 如表 2 所示,所有检测样本 Q30 碱基百分比均高于 91.6%,说明测序数据的质量较好,可信度高,充分满足后续分析要求.

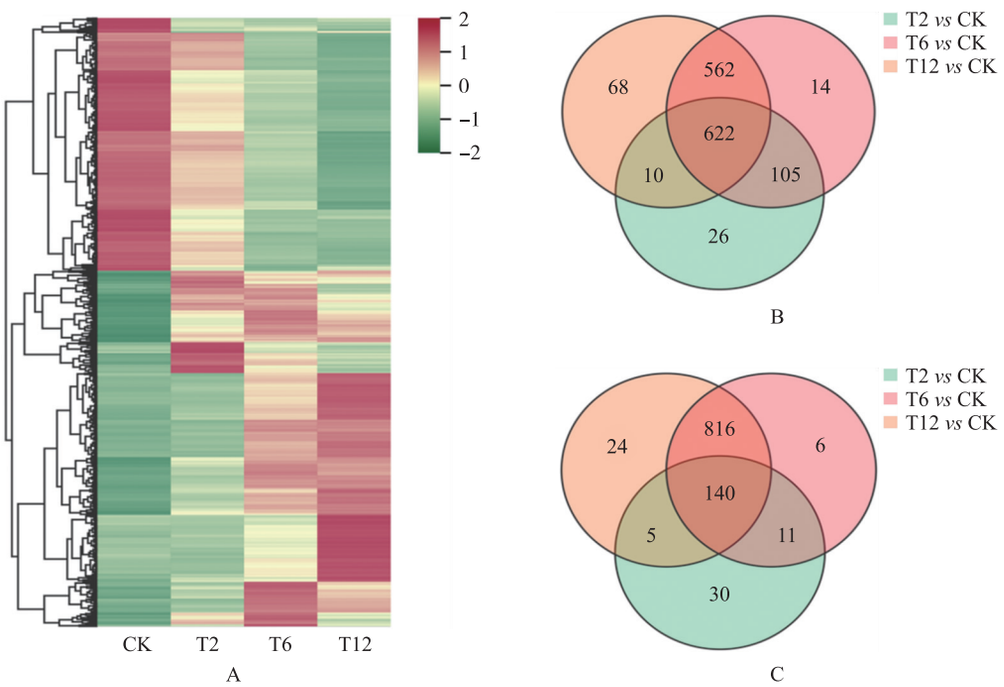
表 2　缺硝态氮条件下茶树叶片的转录组测序数据统计

Table 2　Statistics of transcriptome sequencing data of tea tree leaves under nitrate deficiency conditions

样品	序列数	碱基总数	Q30	N/%	Q20/%	Q30/%
C0-1	43 906 940	6 629 947 940	6 135 484 171	0.001 920	97.24	92.54
C0-2	51 659 256	7 800 547 656	7 231 469 374	0.001 106	97.20	92.70
C0-3	45 716 094	6 903 130 194	6 332 058 659	0.001 977	96.77	91.72
C2-1	43 214 924	6 525 453 524	6 029 423 749	0.001 92	97.16	92.39
C2-2	45 455 384	6 863 762 984	6 383 510 349	0.001 974	97.42	93.00
C2-3	50 130 700	7 569 735 700	6 955 384 843	0.001 905	96.93	91.88
C6-1	39 679 422	5 991 592 722	5 550 226 564	0.001 088	97.23	92.63
C6-2	43 239 068	6 529 099 268	6 002 026 890	0.001 076	96.9	91.92
C6-3	37 519 138	5 665 389 838	5 194 536 428	0.001 076	96.79	91.68
C12-1	43 214 924	6 525 453 524	6 029 423 749	0.001 92	97.16	92.39
C12-2	45 455 384	6 863 762 984	6 383 510 349	0.001 974	97.42	93.00
C12-3	50 130 700	7 569 735 700	6 955 384 843	0.001 905	96.93	91.88
T2-1	40 075 410	6 051 386 910	5 597 975 219	0.001 926	97.19	92.50
T2-2	38 761 554	5 852 994 654	5 381 483 591	0.001 094	96.89	91.94
T2-3	36 783 072	5 554 243 872	5 091 592 413	0.001 107	96.78	91.67
T6-1	42 429 622	6 406 872 922	5 950 939 869	0.001 924	97.30	92.88
T6-2	39 804 480	6 010 476 480	5 558 574 617	0.001 921	97.19	92.48
T6-3	41 128 836	6 210 454 236	5 735 012 865	0.001 917	97.10	92.34
T12-1	45 956 356	6 939 409 756	6 444 374 145	0.001 302	97.30	92.86
T12-2	42 183 730	6 369 743 230	5 892 878 545	0.001 916	97.21	92.51
T12-3	42 103 912	6 357 690 712	5 897 892 128	0.001 92	97.29	92.76

2.3 差异基因分析

考虑到对照组数据的一致性,采用 C0、C2、C6、C12 样本数据平均值,作为整体对照组数据(CK),用于后续分析. 根据筛选标准 q 值<0.005&$|\log_2(\text{Fold change})|>1$,共筛选出 2 407 条差异表达基因(DEGs)(图 2A),其中,T2 *vs* CK 共有 949 个差异基因(上调 763 个,下调 186 个);T6 *vs* CK 共有 2 276 个差异基因(上调 1 303 个,下调 973 个);T12 *vs* CK 共有 2 247 个差异基因(上调 1 262 个,下调 985 个). 下调基因逐渐增多,表明茶树对缺硝态氮胁迫的适应是一个动态过程. 从图 2B 和图 2C 可看出,在缺硝态氮的过程中,共有 622 个基因在 2 h、6 h、12 h 3 个时间点同时表达上调,共有 140 个基因在 2 h、6 h、12 h 3 个时间点同时表达下调.



A.不同时间点差异基因表达量热图;B.T2 *vs* CK、T6 *vs* CK、T12 *vs* CK 的差异基因上调韦恩图;C.T2 *vs* CK、T6 *vs* CK、T12 *vs* CK 的差异基因下调韦恩图.

图 2 茶树缺硝态氮过程中差异表达基因的分析

Fig. 2 Analysis of differentially expressed genes(DEGs) in tea plants during nitrate nitrogen deficiency

2.4 差异基因 GO 富集分析

为进一步明确茶树根系在硝态氮缺失胁迫条件下的功能响应机制,本研究对 DEGs 进行了 GO 富集分析. 筛选出富集显著的前 30 个 GO 条目,按照生物过程(BP)、细胞组分(CC)和分子功能(MF)3 个维度进行分类汇总,并以柱状图形式展示 DEGs 在各 GO 分类中的分布情况,结果如图 3 所示. 在显著富集的 30 个条目中,生物过程(BP)相关条目占 10 项,其中碳水化合物代谢过程(Carbohydrate metabolicprocess,GO:0005975)和响应脱落酸(Response to abscisic acid,GO:0009737)显著富集,提示硝态氮胁迫可能诱导茶树初级代谢重塑及植物激素信号通路的调控变化. 细胞组分(CC)相关条目占 8 项,包括细胞壁(Cell wall,GO:0005618)和液泡(Vacuole,GO:0005773)等,表明硝态氮缺失可能引发细胞结构重构和离子储存等过程. 分子功能(MF)相关条目占 12 项,主要包括铁离子结合(Iron ion binding,GO:0005506)、钙离子结合(Calcium ion binding,GO:0005509)和单加氧酶活性(Monooxygenase activity,GO:0004497)等,表明缺硝态氮处理可能调控与金属离子结合及氧化还原反应相关蛋白的表达.

2.5 差异基因 KEGG 富集分析

为进一步解析茶树根系在硝态氮缺失胁迫条件下的代谢与信号调控变化,对 DEGs 进行了 KEGG 富集分析,并选取显著富集的前 20 个通路绘制气泡图(图 4). 结果显示,通路涵盖代谢(Metabolism)、环境信息处理(Environmental information processing)、信号转导(Signal transduction)等多个功能类别. 其中,酚丙烷类生物合成(Phenylpropanoid biosynthesis)、黄酮类生物合成(Flavonoid biosynthesis)以及转录因子

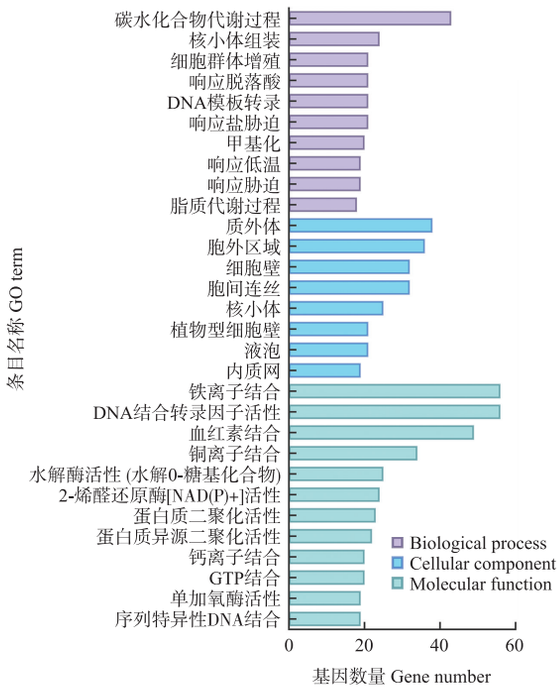


图 3　差异表达基因的 GO 功能富集分析(前 30 个)

Fig. 3　The GO functional analysis of DEGs(Top 30)

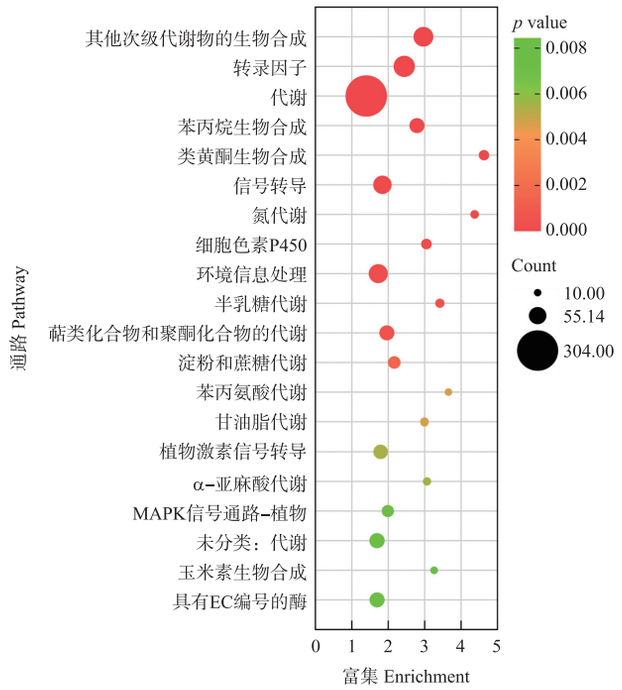


图 4　差异表达基因 KEGG 富集图

Fig. 4　KEGG enrichment plot of DEGs

(Transcription factors)等通路显著富集,且相关基因数量较多,提示硝态氮缺失胁迫可能激活茶树根系的次生代谢调控,尤其是与抗氧化、防御有关的酚类和黄酮类代谢途径的活化. 此外,植物激素信号转导(Plant hormone signal transduction)、MAPK 信号通路(MAPK signaling pathway-plant)及 α-亚麻酸代谢(alpha-Linolenic acid metabolism)等通路也显著富集,表明硝态氮缺失可能通过多层次的信号网络整合调控根系生长与环境适应能力. 同时,与能量和物质代谢相关的淀粉和蔗糖代谢(Starch and sucrose metabolism)、半乳糖代谢(Galactose metabolism)和甘油脂代谢(Glycerolipid metabolism)等亦有显著富集,暗示缺硝态氮胁迫下碳代谢重构的可能性. KEGG 富集结果表明,茶树根系在硝态氮缺失胁迫条件下的响应可能不仅涉及初级代谢的适应性调整,还伴随次生代谢通路及多层次信号通路的协同调控.

2.6　关键基因表达验证

为验证转录组数据的可靠性,从所涉及的关键 DEGs 选取代表性基因进行 RT-qPCR 分析. 结果显示,RT-qPCR 与转录组数据中的基因表达水平相关系数为 0.9308(图 5),说明转录组结果可靠. 在此基础上,对包括 *CsNPF5.7*、*CsNPF6.1*、*CsGDH2.1* 等 8 个与氮素代谢和胁迫响应相关的关键基因进行表达验证,并结合其在氮代谢途径中的作用,构建了茶树根系缺硝态氮胁迫早期代谢动态响应示意图(图 6).

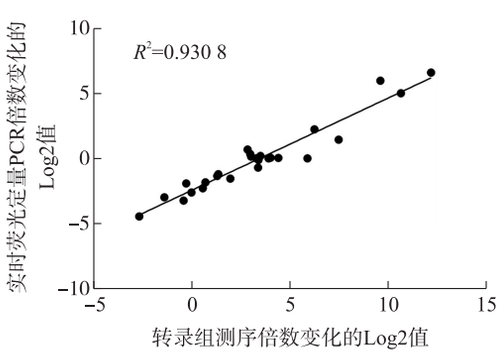


图 5　RT-qPCR 与 RNA-Seq 基因表达水平之间的相关性

Fig. 5　Correlation of the gene expression obtained from RT-qPCR and RNA-Seq

3　结果与讨论

氮素是影响植物生长的关键元素之一,作为重要的叶用经济作物,茶树的产量和品质与氮素供应状况密切相关[19],缺氮会导致嫩芽生长缓慢、顶侧芽萌芽轮次减少及密度稀疏,出现大量对夹叶,影响品质及产量[20]. 氮素主要以硝态氮和铵态氮两种形态存在,尽管茶树表现出典型的铵态氮偏好性,但在土壤—根系环境中硝态氮同样占据重要地位,其吸收与代谢能力直接决定了茶树对复杂氮源条件的适应性[21]. 因此,深入挖掘茶树对硝态氮缺乏的响应机制,对于理解其氮素适应策略及品种改良具有重要意义.

氮素的吸收与转运是茶树氮代谢的起始环节,对其氮利用效率具有关键调控作用. 其中,硝酸盐转运

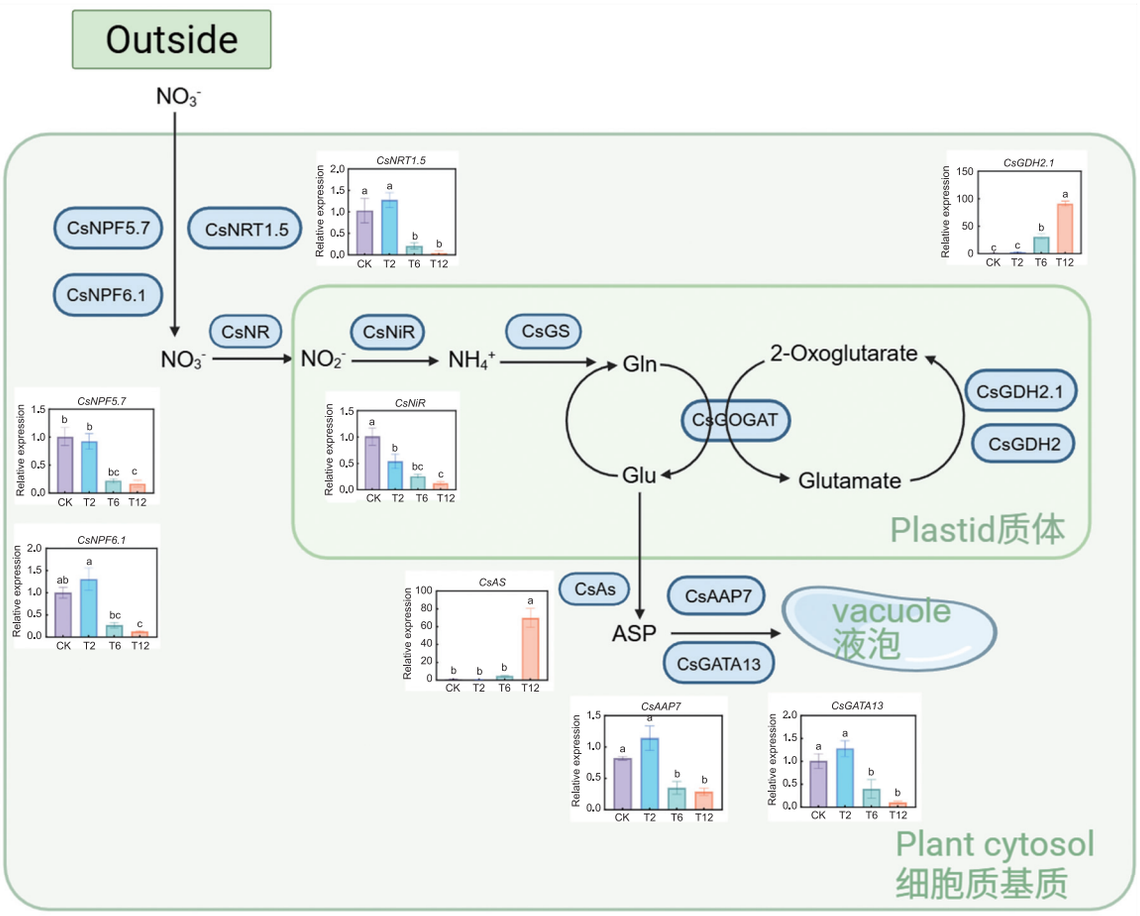


图 6　基于转录组数据提出的茶树缺硝态氮胁迫早期氮代谢动态响应示意图

Fig. 6　A schematic diagram of dynamic response of nitrogen metabolism in tea plants under early nitrogen deficiency stress based on transcriptome data

蛋白(NRT)和 NRT1/PTR 家族(NPF)在模式植物中已被广泛证实参与硝态氮的吸收、长距离运输及信号调控[22-23]. 在茶树中,已有研究表明 *CsNRT1.2*、*CsNRT1.5* 和 *CsNRT2.5* 等基因在不同品种和氮水平下存在表达差异,提示其可能在氮响应中扮演重要角色[24]. 本研究结果显示,在硝态氮缺乏胁迫下,茶树根系中 *CsNRT1.5* 和 *CsNPF5.7* 的表达持续下调,表明茶树可能通过下调转运相关基因,主动减少对硝酸盐的摄取,从而调整氮吸收策略. 这一调控可能反映出茶树在胁迫早期阶段即启动的资源节约机制,有助于降低能量消耗并适应低氮环境,其具体的调控通路与生理影响尚需进一步研究. 通过进一步探讨茶树在硝态氮缺乏胁迫下的生理响应,结果显示,缺硝态氮处理后,茶树叶片的最大光化学效率显著下降,且叶片游离氨基酸含量逐渐减少,这一变化表明,缺硝态氮不仅影响光合功能,还可能抑制氨基酸的合成与代谢. 根系中,NO_3^- 含量在处理 6 h 后显著下降,而 NH_4^+ 含量亦随时间逐渐减少,提示茶树可能未通过增加铵态氮的利用来弥补硝酸盐的不足,从而影响了氮源的供应与代谢调控. 综合这些生理指标,表明茶树对硝态氮缺乏的适应性反应是多层次的,并涉及到光合作用、代谢平衡与氮素代谢的调控.

硝态氮的同化是茶树氮代谢过程中的关键步骤,其中硝酸还原酶(NR)和亚硝酸还原酶(NiR)催化硝酸盐向铵态氮(NH_4^+)的转化,是进入有机氮合成通路的前提[25]. 已有研究表明,在低氮环境下,茶树中 NR、NiR 等酶活性普遍下降,伴随初级氮代谢通路受阻[2]. 本研究结果显示,亚硝酸还原酶基因 *CsNiR* 的表达在胁迫过程中显著下调,提示硝酸盐还原能力可能受限,进而抑制 NH_4^+ 的生成与后续同化反应的发生. 在此背景下,茶树可能通过替代路径维持碳氮代谢的平衡. 研究观察到谷氨酸脱氢酶基因 *CsGDH2.1* 在处理过程中持续上调,该酶具备双向催化功能,既可参与铵同化[26],也可通过谷氨酸脱氨提供 α-酮戊二酸[27],为三羧酸循环补充碳源[28]. 与此同时,天冬氨酸合成酶基因 *CsAS* 表达亦呈增强趋势,可能有助于促进天冬氨酸及其下游氨基酸的合成. 上述表达特征提示,茶树在硝态氮缺乏引起初级同化通量下降

后,可能重新配置碳氮流,以缓解胁迫带来的代谢压力. KEGG 富集分析进一步支持这一变化:氮代谢通路(map00910)的显著富集主要依赖于 *CsGDH2.1* 的贡献,而苯丙烷生物合成通路(map00940)被极显著激活,与儿茶素合成增强密切相关. 综合上述结果可推测,茶树可能在初级氮同化受限的条件下,通过调整代谢关键酶的表达,在碳氮代谢协调与次生代谢增强之间建立起一种动态平衡.

转录因子在植物对氮素胁迫的响应中发挥着重要的调控作用,能够通过调节下游结构基因的表达,介导氮素的感知、转运与同化过程. 其中,GATA 家族转录因子在多种植物中被证实参与光周期调控、氮信号转导及碳氮代谢平衡等过程[29],已有研究表明,拟南芥中 GNC、GNL 等 GATA 成员可响应氮信号、调控叶绿素合成与氮代谢通路[30];水稻中,*OsGATA8* 被认为与氮利用效率调控密切相关[31]. 另一方面,氨基酸转运蛋白家族成员如 *AAP* 类基因主要在根中表达,参与细胞间氨基酸的转运与再分配[32],且受到硝态氮、铵态氮甚至谷氨酰胺的诱导[33],在本研究中,*CsGATA13* 和 *CsAAP7* 对硝态氮缺乏胁迫表现出快速响应特征,其表达水平在处理 2 h 时显著诱导,而在 6 h 和 12 h 受到抑制,呈现相似的动态变化趋势. *CsGATA13* 作为潜在的信号调控因子,或许参与调节部分氮代谢相关通路;而 *CsAAP7* 的早期诱导表达可能反映了茶树在初期胁迫下对氨基酸跨细胞转运的需求上升,随后下调则可能与体内可循环氮素耗竭或转运策略改变有关. 尽管二者之间是否存在直接调控关系尚不明确,该类同步变化的时序特征提示其可能在茶树对早期氮胁迫的信号识别与初步应答中发挥作用. 上述现象提示,茶树可能通过精细调控早期信号因子与转运系统的动态变化,协调氮素的感知、分配与利用,具体调控机制尚需进一步研究予以验证.

4　结论

本研究解析了茶树响应硝态氮缺乏胁迫下的转录调控与主要代谢物的响应特征. 研究表明,硝态氮缺乏处理影响叶片光合效率的同时,对叶片氨基酸合成、根系铵态氮、硝态氮的吸收造成影响;转录组数据显示,茶树可能通过协同调控氮转运、氮同化及转录因子表达,逐步实现从细胞内氮素再分配与信号识别到有机氮吸收与碳氮代谢平衡的调节. 这一过程可能有助于维持胁迫下的生理稳态,体现了茶树在低硝态氮环境中的适应能力. 本研究为茶树氮高效利用的相关研究提供了初步参考,也为后续耐低氮品种的选育与功能基因研究提供了基础线索.

[参考文献]

[1] 林郑和,钟秋生,郝志龙,等. 低氮对不同茶树品种叶绿素荧光特性的影响[J]. 茶叶科学,2017,37(4):363-372.

[2] Lin Z H,Chen C S,Zhao S Q,et al. Molecular and physiological mechanisms of tea(*Camellia sinensis* L. O. Kuntze)leaf and root in response to nitrogen deficiency[J]. BMC Genomics,2023,24(1):27.

[3] 林郑和,钟秋生,游小妹,等. 低氮对茶树生长及叶片抗氧化酶活性的影响[J]. 茶叶学报,2019,60(2):57-63.

[4] 高伟,林国江,颜耀,等. 阔叶化改培对马尾松林土壤碳氮转化的影响[J]. 南京师大学报(自然科学版),2025,48(3):63-72.

[5] 翁艺华,朱熙晴,童秋语,等. 氮肥减施与养殖密度协同调控对稻虾共作模式水稻生长及土壤生态的影响[J]. 南京师大学报(自然科学版),2025,48(5):66-74.

[6] 汪进. 茶树氮素转运蛋白相关基因的克隆与功能分析[D]. 合肥:安徽农业大学,2016.

[7] Wang Y,Wang Y M,Lu Y T,et al. Influence of different nitrogen sources on carbon and nitrogen metabolism and gene expression in tea plants(*Camellia sinensis* L.)[J]. Plant Physiology and Biochemistry,2021,167:561-566.

[8] Fan K,Zhang J,Wang M,et al. Development and application of SNP-KASP markers based on genes related to nitrogen uptake,assimilation and allocation in tea plant(*Camellia sinensis* L.)[J]. Agronomy,2022,12(10):2534.

[9] Yang T,Li H,Tai Y,et al. Transcriptional regulation of amino acid metabolism in response to nitrogen deficiency and nitrogen forms in tea plant root(*Camellia sinensis* L.)[J]. Scientific Reports,2020,10(1):6868.

[10] Zhang X,Liu H,Pilon-Smits E,et al. Transcriptome-wide analysis of nitrogen-regulated genes in tea plant(*Camellia sinensis* L. O. Kuntze)and characterization of amino acid transporter *CsCAT9.1*[J]. Plants,2020,9(9):1218.

[11] Wang Y,Wei K,Ruan L,et al. Systematic investigation and expression profiles of the nitrate transporter 1/peptide transporter family(NPF)in tea plant(*Camellia sinensis*)[J]. International Journal of Molecular Sciences,2022,23(12):6663.

[12] Liu Z W,Li H,Liu J X,et al. Integrative transcriptome,proteome,and microRNA analysis reveals the effects of nitrogen

sufficiency and deficiency conditions on theanine metabolism in the tea plant(*Camellia sinensis*)[J]. Horticulture Research, 2020,7(1):1-13.

[13] Zhang F,Wang L,Bai P,et al. Identification of regulatory networks and hub genes controlling nitrogen uptake in tea plants [*Camellia sinensis*(L.)O. Kuntze][J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2020,68(8):2445-2456.

[14] Li D,Jin Y,Lu Q H,et al. Genome-wide identification and expression analysis of NIN-like protein(NLP) genes:exploring their potential roles in nitrate response in tea plant(*Camellia sinensis*)[J]. Plant Physiology and Biochemistry,2024, 207:108340.

[15] 刘增泰,赵学强,王嘉林,等. 铝处理对不同耐铝水稻品种吸收铵态氮和硝态氮以及相关基因表达的影响[J]. 江西农业学报,2021,33(5):1-7.

[16] 王雷山,Aziz K,袁源,等. 播期和密度对棉花叶柄和根系硝态氮含量的影响[J]. 棉花学报,2016,28(6):574-583.

[17] Xia E,Tong W,Hou Y,et al. The reference genome of tea plant and resequencing of 81 diverse accessions provide insights into its genome evolution and adaptation[J]. Molecular Plant,2020,13(7):1013-1026.

[18] Trapnell C,Williams B A,Pertea G,et al. Transcript assembly and quantification by RNA-seq reveals unannotated transcripts and isoform switching during cell differentiation[J]. Nature Biotechnology,2010,28(5):511-515.

[19] 李延升,杨普香,李琛,等. 茶树施氮效应及茶园氮素流失特性、防治措施研究进展[J]. 蚕桑茶叶通讯,2017(2):16-19.

[20] 李海琳,王丽鸳,成浩,等. 氮素水平对茶树重要农艺性状和化学成分含量的影响[J]. 茶叶科学,2017,37(4):383-391.

[21] 宋博. 茶树 *CsAMT2s* 基因对铵态氮吸收调控机制研究[D]. 福州:福建农林大学,2023.

[22] 黄玮. 茶树氨基酸转运基因 *CsLHTs* 及自噬相关基因 CsATGs 氮素利用功能解析[D]. 武汉:华中农业大学,2022.

[23] Krapp A,David L C,Chardin C,et al. Nitrate transport and signalling in *Arabidopsis*[J]. Journal of Experimental Botany, 2014,65(3):789-798.

[24] 冯素花. 茶树硝酸根转运蛋白 NRT1.2、NRT1.5 和 NRT2.5 基因的克隆与表达[D]. 北京:中国农业科学院,2014.

[25] 王涛. 茶树铵转运蛋白 *CsAMT2.2* 转录调控研究[D]. 福州:福建农林大学,2022.

[26] 汤丹丹. 茶树胞质型谷氨酰胺合成酶基因 *CsGS1s* 的克隆及其对不同氮源的响应[D]. 北京:中国农业科学院,2018.

[27] 黄国存,田波. 高等植物中的谷氨酸脱氢酶及其生理作用[J]. 植物学通报,2001(4):396-401.

[28] Fontaine J X,Terce-Laforgue T,Armengaud P,et al. Characterization of a NADH-dependent glutamate dehydrogenase mutant of *Arabidopsis* demonstrates the key role of this enzyme in root carbon and nitrogen metabolism[J]. Plant Cell,2012,24(10): 4044-4065.

[29] Gao Y,Sun C,Zhang X,et al. Identification of the GATA transcription factor family in tea plant(*Camellia sinensis*) and the characterizations in nitrogen metabolism[J]. Plant Physiology and Biochemistry,2025,221:109661.

[30] Chiang Y H,Zubo Y O,Tapken W,et al. Functional characterization of the GATA transcription factors GNC and CGA1 reveals their key role in chloroplast development,growth,and division in *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology,2012,160(1):332-348.

[31] Wu W,Dong X,Chen G,et al. The elite haplotype *OsGATA8-H* coordinates nitrogen uptake and productive tiller formation in rice[J]. Nature Genetics,2024,56(7):1516-1526.

[32] Lee Y H,Foster J,Chen J,et al. AAP1 transports uncharged amino acids into roots of *Arabidopsis*[J]. The Plant Journal:for Cell and Molecular Biology,2007,50(2):305-319.

[33] Zhang L,Tan Q,Lee R,et al. Altered xylem-phloem transfer of amino acids affects metabolism and leads to increased seed yield and oil content in *Arabidopsis*[J]. Plant Cell,2010,22(11):3603-3620.

[责任编辑:黄　敏]