

枳感染柑橘衰退病病毒后的应答基因分析

程春振^{1,2}, 钟云¹, 吴波^{1,2}, 阳佳位³, 贝学军^{1,2}, 姜波¹, 朱世平²,
闫树堂², 张永艳¹, 曾继吾^{1,*}, 钟广炎^{1,*}

(¹广东省农业科学院果树研究所, 广州 510640; ²西南大学园艺园林学院/柑桔研究所, 重庆 400715; ³四川省荣县经济作物站, 四川自贡 643100)

摘要: 枳 (*Poncirus trifoliata* L.) 高抗柑橘衰退病病毒 (*Citrus tristeza virus*, CTV), 但相关抗性机理仍不为人所知。以嫁接健康枝条的无毒枳作为对照, 用 Affymetrix 柑橘基因芯片分析了感染 CTV 后枳叶片中基因的表达变化情况。结果共检测到表达量差异倍数 ≥ 2 的基因 295 个, 其中 216 个表达上调, 79 个表达下调。BLAST2GO 分析发现, 差异表达的基因中与抗逆反应相关的基因最多, 乙烯、茉莉酸、赤霉素、脱落酸、生长素、水杨酸等植物激素代谢和调节相关基因为数不少, 一些编码细胞壁形成或组分相关蛋白的基因差异表达明显。本研究可为揭示枳抗 CTV 的机理提供了转录组学线索。

关键词: 枳; 柑橘衰退病病毒; 转录组学变化; CTV 侵染

中图分类号: S 666

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2013) 12-2341-13

Transcriptomic Responses of *Poncirus trifoliata* to *Citrus tristeza virus* (CTV) Infection

CHENG Chun-zhen^{1,2}, ZHONG Yun¹, WU Bo^{1,2}, YANG Jia-wei³, BEI Xue-jun^{1,2}, JIANG Bo¹, ZHU Shi-ping², YAN Shu-tang², ZHANG Yong-yan¹, ZENG Ji-wu^{1,*}, and ZHONG Guang-yan^{1,*}

(¹ Institute of Fruit Tree Research, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China; ² College of Horticulture and Landscape Architecture/Citrus Research Institute, Southwest University, Chongqing 400715, China; ³ Economic Crops Station, Agricultural Bureau of Rongxian, Zigong, Sichuan 643100, China)

Abstract: Trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata* L.) is highly resistant to *Citrus tristeza virus* (CTV), but the underlying mechanism has not yet been known. The transcriptomic patterns in leaves of trifoliolate orange trees infected with CTV were compared with those of uninfected trees by using Affymetrix citrus genome microarray analysis. A total of 295 genes were identified to be differentially regulated by more than 2-fold following CTV infection, among which were 216 up-regulated and 79 down-regulated genes. BLAST2GO gene ontology analysis showed that a large number of the genes are related to responses to biotic and abiotic stimuli and stresses. A significant number of the genes were involved in metabolism and regulation of ethylene, jasmonic acid, gibberellins, abscisic acid, auxins, salicylic acid. Some responsive genes encode either cell wall proteins or those participating in cell wall formation. These results obtained in this study should provide some important transcriptional clues to understanding the mechanism of CTV

收稿日期: 2013-07-03; **修回日期:** 2013-10-11

基金项目: 科技部国际合作项目 (2012DFA30610); 农业部公益性行业 (农业) 科研专项 (201203075-07); ‘十二五’农村领域国家科技计划课题 (2011AA100205); 广东省科技计划项目 (2012A020200016, 2012B091100169)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: jiwuzeng@163.com; gy_zhong@163.com)

resistance of trifoliolate orange.

Key words: trifoliolate orange; *Poncirus trifoliata*; *Citrus tristeza virus* (CTV); transcriptomic changes; CTV-infection

柑橘衰退病由柑橘衰退病毒 (*Citrus tristeza virus*, CTV) 引起, 是全球和中国柑橘产区普遍发生的病害。澳大利亚等国家的一些酸橙砧柑橘曾一度被该病毁灭 (Yang et al., 2001, 2003; Zhou et al., 2007)。在中国, CTV 的发生在非砧砧柑橘产区比较严重。CTV 病毒主要通过蚜虫和带病接穗嫁接传播。生产中主要是通过使用抗性砧木、控制蚜虫、接种 CTV 弱毒系进行交叉保护等手段 (Costa & Muller, 1980) 来进行防控。此外, 加强检疫、铲除病株也是行之有效的防控方法。原产中国的枳 (*Poncirus trifoliata* L.) 高抗 CTV, 是一个优异的抗性资源。分析表明枳拥有一个单显性抗性基因 *Ctv*。但迄今为止, 有关克隆 *Ctv* 基因的工作并无很大进展 (Deng et al., 2001), 故相关抗病作用机制尚无定论 (Yang et al., 2003)。本试验中以枳作为材料, 应用 Affymetrix 柑橘基因芯片, 在全基因组水平上检测了枳在感染 CTV 后的基因表达变化情况, 以期阐明枳抗 CTV 机制提供转录组学证据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验于 2010 年 6—9 月在中国农业科学院柑桔研究所网室内进行。供试材料为 8 株 2 年生的无毒枳 (*Poncirus trifoliata* L.) 实生苗, 取自中国农业科学院柑桔研究所脱毒中心。CTV 毒源为强毒株 CT14, 由中国农业科学院柑桔研究所周彦副研究员惠赠。

供试枳苗分为两组, 每组 4 株, 编号为 1~4 和 5~8, 分别用于对照和接毒处理。采用切接法嫁接对照健康无毒和带 CT14 的枝条。具体如下: 于枳苗基部以上约 25 cm 处剪去顶端, 在 1~4 号植株上嫁接长约 3 cm 无毒甜橙枝条, 在 5~8 号植株上嫁接带同样程度的感染了 CT14 的甜橙枝条。

1.2 RNA 提取及 CTV 的检测

接种 1 个月后检测嫁接接口以下枳萌蘖叶片, 用 Trizol 法提取叶片总 RNA。用 RT-PCR 确定对照和接毒处理材料中的 CTV 滴度。以总 RNA 为模板, 用 M-MLV RTase cDNA Synthesis Kit 反转录试剂盒 (TaKaRa) 反转录合成 cDNA。PCR 引物为本实验室前期克隆 CTV *p23* 基因片段所用的特异性引物 (阳佳位, 2010), 序列为: 上游引物: 5'-CTTCCAACAATACGCAGTCTCAG-3'; 下游引物: 5'-GAAGATCTCCGCCGAAACACTCAGAC-3'。预期目标片段长度为 355 bp, 以此为依据判断材料中有无 CTV。PCR 条件参照阳佳位 (2010) 的方法。

1.3 基因芯片杂交试验

经 RT-PCR 检测, 在 5~8 号接毒枳苗中, 共有 3 株 (5~7 号) CTV 阳性, 1~4 号对照和 8 号处理没有检出 CTV。提取 3 株 CTV 阳性枳叶片及 3 株无毒对照 (1~3 号) 叶片中的总 RNA, 送上海晶泰生物技术有限公司进行基因芯片杂交分析。所用基因芯片为 Affymetrix Citrusgenome Array, 该芯片包括了覆盖 33 879 个柑橘转录本的探针组 30 171 个、可供检测 5 023 个柑橘 SNP 的探针组、7 个技术对照探针组、2 个柑橘 tiling 探针组和 46 个柑橘病害探针组。RNA 的纯化、定量、反转录生成 cRNA、芯片杂交、信号扫描记录等均严格按照 Affymetrix 公司表达谱芯片操作手册进行。

1.4 基因芯片数据分析

以上调或下调大于 2 倍作为标准, 筛选处理组和对照组间的差异表达基因。依据差异表达基因的 ID 从 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/batchentrez>) 下载差异表达基因的序列。在 $E\text{-value} < 1.0E^{-3}$ 的水平下, 用 BLAST2GO 软件比对寻找同源序列, 并进行同源基因聚类分析。上调和下调基因的比对和基因功能归类分析分别进行。作为确认, 从华中农业大学甜橙基因组网站 (<http://citrus.hzau.edu.cn/orange/>) 下载了甜橙基因组的预测转录本 (Xu et al., 2012), 建立了本地 BLAST 核苷酸数据库, 利用 BLAST+程序将检测到的差异表达序列与甜橙的预测转录本一一对应。

2 结果与分析

2.1 RNA 提取及 CTV 检测

经电泳和分光光度计检测, 采用 Trizol 法提取的总 RNA 质量符合后续分析要求。如图 1 所示, 嫁接 1 个月后检测 CTV, 5~8 号接种 CT14 的枳叶片中 5~7 号检测到 CTV *p23* 基因的扩增子, 8 号无检出, 而 1~4 号对照的检测结果均为阴性。



图 1 枳嫁接带 CTV 强毒株 CT14 的甜橙枝条以及对照嫁接健康枝条 1 个月后叶片中 CTV 病毒的 RT-PCR 检测结果

M: DL2000 DNA marker; +: 正对照 (模板为 CT14 毒源株的 RNA); -: 负对照 (模板为健康枝条 RNA);
1~4: 对照嫁接健康枝条的植株; 5~8: 处理嫁接 CT14 带毒枝条植株 (8 号为阴性)。

Fig. 1 RT-PCR detection for CTV in trifoliolate orange leaves one month after grafted with sweet orange shoots infected with or without CT14, a severe CTV strain

M: DL2000 DNA marker; +: Positive control (total RNA from CT14 infected trees); -: Negative control (total RNA from uninfected healthy trees); 1-4: Leaves from individual trees grafted with healthy shoots; 5-8: Individuals grafted with CT14-infected shoots (8 is negative) .

2.2 枳感染 CTV 后基因差异表达情况

图 2 显示了枳在 CTV 侵染后的转录谱变化, 总体上, 枳感染 CTV 后转录谱变化不太剧烈, 这可能与枳对 CTV 的高抗有关。

根据染病材料/健康材料的芯片杂交信号比值分析, 共有 318 组探针检测到基因差异表达信号, 其中 230 组的信号比值 $> +2$ (上调), 88 组 < -2 (下调)。比对探针所对应的序列, 去除重复后, 得到 216 个上调基因和 79 个下调基因, 共计 295 个。这些基因中有 260 个可以在甜橙基因组中找到对应的转录本, 其中, 193 个上调, 67 个下调 (表 1)。

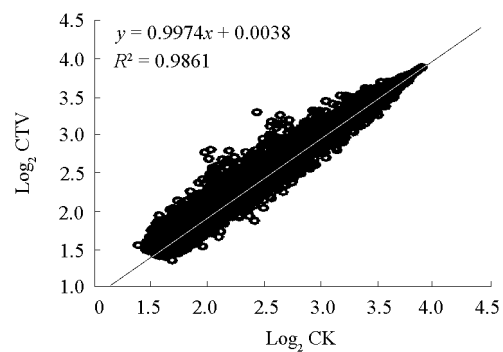


图 2 对照 (CK) 和染病植株对应探针信号值散点图

Fig. 2 Pair-wise probe signal value comparisons

表 1 差异表达基因 BLAST2GO 比对结果

Table 1 BLAST2GO annotation result of differentially expressed genes in leaves of CTV-infected trees

探针编号 Probe ID	变化倍数 Fold change	代表的公共 ID Representative public ID*	基因组 ID Genome ID	基因注释 Annotation
Cit.8601.1.S1_s_at	22.6691	CF653632	Cs5g34640	富甘氨酸蛋白质 Glycine-rich protein
Cit.39543.1.S1_s_at	10.5264	DN795403	Cs6g09970	脂质转移蛋白 Lipid transfer protein
Cit.5201.1.S1_at	9.16526	CF837666	Cs8g04610	GH3 家族蛋白 GH3 family protein
Cit.14150.1.S1_s_at	7.88576	CX640368	Cs9g04500	促进开花因子 1 类似蛋白 3 类似蛋白 Flowering-promoting factor 1-like protein 3-like
Cit.17235.1.S1_s_at	7.78468	DN798180	Cs2g03270	9-顺式-环氧类胡萝卜素双加氧酶 2 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase 2
Cit.23036.1.S1_s_at	7.29998	CV714093		吲哚-3-乙酸-氨基合成酶 Indole-3-acetic acid-amido synthetase
Cit.10203.1.S1_s_at	7.25068	CX050819		表皮因子 Protodermal factor
Cit.14472.1.S1_s_at	6.57696	<u>CV707912</u>	Cs4g17960	
Cit.2849.1.S1_at	6.2994	<u>CV706854</u>	orange1.1t03175	富含亮氨酸重复序列的受体类似蛋白 Leucine-rich repeat receptor-like protein
Cit.22980.1.S1_s_at	6.22599	CX045326		硝酸还原酶 Nitrate reductase
Cit.12810.1.S1_at	6.21238	CF831445	Cs5g30790	叶绿素酶 1 Chlorophyllase 1
Cit.18512.1.S1_at	5.77614	CX293541	orange1.1t02775	β -1,3-葡聚糖酶 Beta-1,3-glucanase
Cit.26052.1.S1_s_at	5.5826	CF834805	Cs7g32150	蛋白 Protein
Cit.2848.1.S1_s_at	5.49159	DN795261	orange1.1t03175	富含亮氨酸重复序列的受体类似蛋白 Leucine-rich repeat receptor-like protein
Cit.14790.1.S1_s_at	5.42532	CF836328	Cs3g15870	保守的假定蛋白 Conserved hypothetical protein
Cit.10334.1.S1_at	4.90886	CX664370	Cs3g19060	硝酸还原酶 Nitrate reductase
Cit.11821.1.S1_s_at	4.7112	CF832326	Cs4g06640	果胶甲酯酶 Pectin methylesterase
Cit.34096.1.S1_s_at	4.47438	CX304446	Cs5g32270	过氧化物酶 3 类似蛋白 Peroxidase 3-like
Cit.31072.1.S1_at	4.46219	CX299462	Cs4g16180	F-box 和 wd40 结构域 F-box and wd40 domain
Cit.15061.1.S1_at	4.43641	CX078390	Cs5g17950	GDSL 酯酶脂肪酶 at1g71691 类似蛋白 GDSL esterase lipase at1g71691-like
Cit.24646.1.S1_s_at	4.35322	CX636575		可能的木葡聚糖内转葡糖苷酶水解酶蛋白 8 类似蛋白 Probable xyloglucan endotransglucosylase hydrolase protein 8-like
Cit.12252.1.S1_at	4.28474	CF837443	Cs1g22140	可能的吲哚-3-乙酸-氨基合成酶类似蛋白 Probable indole-3-acetic acid-amido synthetase-like
Cit.16076.1.S1_at	4.22148	DN623360	Cs1g08030	
Cit.24499.1.S1_at	4.21444	<u>CX545821</u>	Cs2g03270	9-顺式-环氧类胡萝卜素双加氧酶 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase
Cit.27776.1.S1_at	3.83907	CX675402	Cs4g04780	羟化肉桂酰基-奎尼酸羟化肉桂酰基转移酶 Hydroxycinnamoyl-quinic acid hydroxycinnamoyltransferase
Cit.20144.1.S1_s_at	3.80239	CF833180	Cs3g23110	可能的异天冬氨酸肽酶 1-天冬酰胺酶 2 类似蛋白 Probable isoaspartyl peptidase 1-asparaginase 2-like
Cit.2936.1.S1_at	3.69632	CF833103	orange1.1t03302	朱栾倍半萜合成酶类似蛋白 Valencene synthase-like
Cit.32726.1.S1_s_at	3.68716	CX293833	Cs1g14580	衣被蛋白 β 亚基 2 类似蛋白 Coatomer subunit beta-2-like
Cit.7237.1.S1_at	3.66843	CF830793	Cs7g31500	BADH 酰基转移酶 dcr 类似蛋白 BADH acyltransferase dcr-like
Cit.23259.1.S1_s_at	3.66764	CX676279	orange1.1t00072	奇异果甜蛋白类似蛋白 Thaumatin-like protein
Cit.30026.1.S1_at	3.6368	CX291159	orange1.1t02775	类黄酮 3 单氧酶类似蛋白 Flavonoid 3-monooxygenase-like
Cit.13059.1.S1_s_at	3.61314	CX078233	Cs2g07590	可能的木葡聚糖内转葡糖苷酶水解酶蛋白 8 类似蛋白 Probable xyloglucan endotransglucosylase hydrolase protein 8-like
Cit.11356.1.S1_s_at	3.54098	CF837067	Cs6g07830	BADH 酰基转移酶 dcr 类似蛋白 BADH acyltransferase dcr-like
Cit.11241.1.S1_s_at	3.46408	CX049273	Cs1g02750	Eceriferum 1 类似蛋白 Protein eceriferum 1-like
Cit.5956.1.S1_at	3.45808	CV885460	Cs4g02670	枯萎病相关蛋白 p12 前体 Blight-associated protein p12 precursor
Cit.15547.1.S1_at	3.44393	CX045057	Cs2g05960	DNA 结合蛋白 DNA binding
Cit.18766.1.S1_at	3.43599	CX300888	Cs2g03380	赤霉素 2- β -双加氧酶 Gibberellin 2-beta-dioxygenase
Cit.7647.1.S1_at	3.42273	CX672084		A 型响应调节子 Type-A response regulator
Cit.1937.1.S1_s_at	3.42219	CX643907	Cs1g20090	组蛋白 Histone
Cit.2275.1.S1_s_at	3.41464	CX077593	Cs8g20310	脂肪酸去饱和酶 Fatty acid desaturase
Cit.22763.1.S1_s_at	3.40326	CN185598	Cs5g29870	乙烯响应转录因子 1b 类似蛋白 Ethylene-responsive transcription factor 1b-like
Cit.19872.1.S1_s_at	3.37188	CK934140	Cs6g21260	赤霉素调节蛋白 Gibberellin-regulated protein
Cit.20988.1.S1_s_at	3.37084	DN795374	Cs5g29870	乙烯响应因子 10 Ethylene response factor 10
Cit.10547.1.S1_s_at	3.33783	CN186513	Cs3g19770	IAA-氨基酸水解酶 ilr1-类似蛋白 6 类似蛋白 IAA-amino acid hydrolase ilr1-like 6-like
Cit.13157.1.S1_at	3.29143	CF836514	Cs5g09850	生长调节因子 Growth-regulating factor
Cit.15280.1.S1_at	3.28439	DT214568	Cs4g08770	果胶裂解酶 Pectate lyase
Cit.326.1.S1_s_at	3.28377	CV885111	Cs6g11700	质膜内在蛋白 Plasma membrane intrinsic protein

续表 1

探针编号 Probe ID	变化倍数 Fold change	代表的公共 ID Representative public ID*	基因组 ID Genome ID	基因注释 Annotation
Cit.28868.1.S1_at	3.25589	CX544208	Cs5g25530	锌指蛋白 Zinc finger
Cit.994.1.S1_s_at	3.24423	CN187913	Cs5g20520	预测的蛋白质 Predicted protein
Cit.2899.1.S1_s_at	3.23977	CV714863	Cs1g18540	无机焦磷酸酶 2 类似蛋白 Inorganic pyrophosphatase 2-like
Cit.36935.1.S1_s_at	3.19086	CD576001	Cs1g24440	水杨酸氧甲基转移酶 Salicylate O-methyltransferase
Cit.9703.1.S1_at	3.18828	CV704366	orange1.1t00647	β -1,3-葡聚糖酶 Beta-1,3-glucanase
Cit.1561.1.S1_s_at	3.187	CV714253	Cs9g05770	内- β -1,3-D-葡聚糖酶类似蛋白 Endo-1,3-beta-D-glucanase-like
Cit.7831.1.S1_at	3.15968	CV713930	Cs3g19200	核酸结合蛋白 Nucleic acid binding
Cit.39867.1.S1_s_at	3.15137	CX043277	Cs2g07700	色氨酸合酶 β 链 Tryptophan synthase beta chain
Cit.12029.1.S1_s_at	3.14893	CX075198	Cs2g10240	Sec14 细胞质机制因子类似蛋白 Sec14 cytosolic factor-like
Cit.6513.1.S1_a_at	3.12258	CV885740	Cs3g27260	G2 期有丝分裂特异细胞周期蛋白 1 类似蛋白 G2 mitotic-specific cyclin-1-like
Cit.28765.1.S1_s_at	3.08851	CD575300	Cs5g07230	细胞色素 p450 94a1 类似蛋白 Cytochrome p450 94a1-like
Cit.14797.1.S1_s_at	3.05777	CX672642	Cs9g19000	BDAH 酰基转移酶 at5g47980 类似蛋白 BADH acyltransferase at5g47980-like
Cit.28855.1.S1_at	3.02684	CX543674	Cs9g19000	BDAH 酰基转移酶 at5g47980 类似蛋白 BADH acyltransferase at5g47980-like
Cit.4137.1.S1_s_at	3.01819	CF417094	Cs2g30950	泛素结合酶 e2 19 类似蛋白 Ubiquitin-conjugating enzyme e2 19-like
Cit.11394.1.S1_s_at	3.00320	CX637781	orange1.1t03632	可能的谷胱甘肽 S 转移酶 Probable glutathione s-transferase-like
Cit.3500.1.S1_s_at	2.98203	CN186800	Cs1g23370	预测的蛋白质 Predicted protein
Cit.16181.1.S1_at	2.96909	CX665264	Cs1g16026	
Cit.12551.1.S1_s_at	2.96115	CF836726		组蛋白 H3 Histone H3
Cit.17322.1.S1_at	2.92596	CK935733	Cs5g32200	组蛋白 H2ax 类似蛋白 Histone H2ax-like
Cit.12552.1.S1_at	2.91843	CX639157		组蛋白 H3 Histone H3
Cit.15109.1.S1_s_at	2.91035	CX636559	orange1.1t02723	磷酸酶 b 类似蛋白 4 类似蛋白 Calcineurin b-like protein 4-like
Cit.6043.1.S1_at	2.88499	CX295835	Cs3g17870	同源亮氨酸拉链蛋白 athb-6 类似蛋白 Homeobox-leucine zipper protein athb-6-like
Cit.11773.1.S1_s_at	2.86564	CK934823	Cs5g24700	PHD 指蛋白 PHD finger
Cit.23769.1.S1_at	2.86332	CV706171	Cs6g14370	未定义的蛋白 loc101208663 Uncharacterized loc101208663
Cit.24426.1.S1_s_at	2.85543	CX544543		无机焦磷酸酶 3 类似蛋白 Inorganic pyrophosphatase 3-like
Cit.3514.1.S1_at	2.84018	CX052342	Cs8g05170	D3 型细胞周期蛋白 D3-type cyclin
Cit.13613.1.S1_at	2.83913	CN191047	Cs8g16360	细胞分裂素核苷 5-单磷酸磷酸核糖水解酶 log1 类似蛋白 Cytokinin riboside 5-monophosphate phosphoribohydrolase log1-like
Cit.2738.1.S1_s_at	2.82639	CN182109		
Cit.40325.1.S1_s_at	2.81975	DR403986	Cs5g16830	叶绿素酶 1 Chlorophyllase 1
Cit.9417.1.S1_x_at	2.81620	CF832614	Cs1g15940	茎 28 kD 糖蛋白 Stem 28 kD glycoprotein
Cit.6808.1.S1_at	2.77477	DN957863	Cs6g18610	转录因子 bee 3 (油菜素内酯增强表达蛋白) 类似蛋白 Transcription factor bee 3-like
Cit.34184.1.S1_s_at	2.77015	CX305043	Cs7g02820	包含茉莉酸 ZIM 结构域的蛋白 10 Jasmonate ZIM domain-containing protein 10
Cit.35998.1.S1_at	2.76987	CB292955	Cs8g11810	γ -谷氨酰基水解酶 Gamma-glutamyl hydrolase
Cit.6339.1.S1_at	2.76155	CD575044	Cs7g08330	碱性螺旋-环-螺旋 Basic helix-loop-helix
Cit.4047.1.S1_at	2.75946	CX044216	Cs7g03770	核糖核酸酶 t2 Ribonuclease t2
Cit.28131.1.S1_s_at	2.75410	CX674473	Cs9g08850	乙烯受体 2 Ethylene receptor 2
Cit.9890.1.S1_s_at	2.75299	CK933281	Cs8g04550	Snakin-1
Cit.3316.1.S1_s_at	2.74889	CV710450	Cs2g12130	乙酰乳糖合酶小亚基 Acetolactate synthase small subunit chloroplastic-like
Cit.20040.1.S1_at	2.74368	CB250273	Cs1g25530	
Cit.17880.1.S1_at	2.73552	CK933290	Cs5g24700	PHD 指蛋白 PHD finger
Cit.3255.1.S1_at	2.72424	CV887326	Cs5g25530	GDSL 酯酶脂肪酶 at5g33370 类似蛋白 GDSL esterase lipase at5g33370-like
Cit.10075.1.S1_at	2.71742	CN181645	orange1.1t00829	细胞壁蛋白类似蛋白 Cell wall protein-like
Cit.5006.1.S1_at	2.70958	CV712612	Cs4g18300	钙调蛋白结合蛋白 Calmodulin binding
Cit.26663.1.S1_s_at	2.70553	CX043919	Cs1g16430	细胞质磺基转移酶 15 类似蛋白 Cytosolic sulfotransferase 15-like
Cit.5282.1.S1_at	2.68926	CX676566	Cs7g31010	无色花色素双加氧酶 Leucoanthocyanidin dioxygenase
Cit.25466.1.S1_at	2.65359	CX666642	Cs3g12230	脱氢奎尼酸脱水酶莽草酸脱氢酶 Dehydroquininate dehydratase shikimate dehydrogenase
Cit.9590.1.S1_at	2.63202	CX643181	Cs7g25030	
Cit.29619.1.S1_s_at	2.62964	CV707668	orange1.1t00550	转录因子 MYC2 类似蛋白 Transcription factor MYC2-like
Cit.15501.1.S1_at	2.62531	CX049080	Cs3g24930	Zf-hd 同源框蛋白 at4g24660 类似蛋白 zf-hd homeobox protein at4g24660-like
Cit.39977.1.S1_s_at	2.61885	CK933075	Cs7g17000	表皮因子 Protodermal factor
Cit.17470.1.S1_at	2.61653	CF829747		

续表 1

探针编号 Probe ID	变化倍数 Fold change	代表的公共 ID Representative public ID*	基因组 ID Genome ID	基因注释 Annotation
Cit.27555.1.S1_at	2.61571	CX075046	Cs4g14320	细胞分裂素脱氢酶 3 类似蛋白 Cytokinin dehydrogenase 3-like
Cit.17723.1.S1_s_at	2.61132	DN799322	Cs1g15940	茎 28 kD 糖蛋白 Stem 28 kD glycoprotein
Cit.26896.1.S1_s_at	2.61124	CV715319		PHD 指蛋白 PHD finger
Cit.14278.1.S1_at	2.59208	CX671856	Cs9g08070	离子通道 pollux 类似蛋白 2 类似蛋白 Ion channel pollux-like 2-like
Cit.11496.1.S1_s_at	2.59063	CK933242	Cs8g18050	组氨酸 H2A Histone H2A
Cit.302.1.S1_s_at	2.58395	CF838393	Cs1g26330	几丁质酶 Chitinase
Cit.5316.1.S1_at	2.56901	CN181687	Cs6g08500	无色花色素双加氧酶 Leucoanthocyanidin dioxygenase
Cit.10546.1.S1_s_at	2.56471	CF836363	Cs3g19760	IAA - 氨基酸水解酶 ilr1 - 类似蛋白 6 类似蛋白 IAA-amino acid hydrolase ilr1-like 6-like
Cit.5612.1.S1_at	2.54334	CX075228	Cs1g18110	Protein hothead-like
Cit.27169.1.S1_x_at	2.54258	CV718839	orange1.1t02044	过氧化物酶 Peroxidase
Cit.14462.1.S1_s_at	2.53429	<u>CD574904</u>	orange1.1t00550	转录因子 MYC2 类似蛋白 Transcription factor MYC2-like
Cit.4159.1.S1_s_at	2.51141	BQ623616	Cs5g04810	双组分响应调节子 ARR5 类似蛋白 Two-component response regulator ARR5-like
Cit.22086.1.S1_s_at	2.49942	DN624756	Cs6g07570	网状内皮素类似蛋白 b12 类似蛋白 Reticulon-like protein b12-like
Cit.5455.1.S1_at	2.48750	CX047320	orange1.1t04379	磷酸核糖邻氨基苯甲酸转移酶 Phosphoribosylanthranilate transferase
Cit.7392.1.S1_s_at	2.48663	<u>CD574668</u>		转录因子 pif5 类似蛋白 Transcription factor pif5-like
Cit.2559.1.S1_s_at	2.47122	CF828981	Cs7g18970	多聚半乳糖醛酸酶抑制蛋白 Polygalacturonase-inhibiting protein
Cit.3353.1.S1_at	2.46369	CX639185	Cs8g06740	胚柄特异蛋白 Suspensor-specific protein
Cit.9416.1.S1_x_at	2.45871	CF833132	Cs1g15940	茎 28 kD 糖蛋白 Stem 28 kD glycoprotein
Cit.30455.1.S1_s_at	2.45798	CK934413	Cs2g20010	
Cit.13455.1.S1_s_at	2.45284	CX076871	Cs8g12020	木葡聚糖内糖基转移酶 Xyloglucan endotransglycosylase
Cit.4498.1.S1_at	2.44319	<u>CV705450</u>		牻牛儿牻牛儿焦磷酸酯 Geranyl geranyl pyrophosphate
Cit.18726.1.S1_at	2.44246	CX300469	Cs9g06720	伯胺氧化酶 Primary amine oxidase
Cit.3746.1.S1_s_at	2.41242	CX046087	Cs2g29780	乙醇酰基转移酶 Alcohol acyl transferase
Cit.29411.1.S1_at	2.40820	CF418090	Cs3g03970	蛋白 Protein
Cit.3086.1.S1_at	2.40335	CF836306	Cs7g26930	
Cit.29907.1.S1_at	2.40196	CK933113	Cs2g21235	
Cit.2228.1.S1_s_at	2.37010	CF417841	Cs8g09090	伸展蛋白类似蛋白 Extensin-like protein
Cit.4444.1.S1_at	2.36876	CF838361	Cs7g24810	多聚精胺醛酯酶类似蛋白 Polyneuridine-aldehyde esterase-like
Cit.25075.1.S1_s_at	2.36811	CX305691	Cs5g04330	可能的硝酸盐转运子 at5g62680 类似蛋白 Probable peptide nitrate transporter at5g62680-like
Cit.16192.1.S1_at	2.35743	CF836250	Cs2g19430	推测的蛋白质 Predicted protein
Cit.10092.1.S1_s_at	2.35388	CV886222	Cs8g06810	多元醇转运子 5 类似蛋白 Polyol transporter 5-like
Cit.17023.1.S1_s_at	2.35221	CK936315	Cs9g14370	21 kD 蛋白 21kD protein
Cit.25617.1.S1_s_at	2.34961	CF828261		
Cit.32156.1.S1_at	2.33912	CX290658	Cs3g26610	α 扩张蛋白 11 Alpha-expansin 11
Cit.19378.1.S1_s_at	2.33550	CK934539	Cs3g20580	Basic blue
Cit.22550.1.S1_s_at	2.31739	CF833518	Cs9g06170	碱性 7S 球蛋白 2 前体 Basic 7S globulin 2 precursor small
Cit.14453.1.S1_at	2.30432	CX045048	Cs8g14120	γ 萜品烯合酶 Gamma-terpinene synthase
Cit.5248.1.S1_at	2.29532	CX673249	Cs4g06670	可能的果胶酯酶果胶酯酶抑制因子 12 类似蛋白 Probable pectinesterase pectinesterase inhibitor 12-like
Cit.6762.1.S1_at	2.29317	CX048335	Cs7g24730	液泡氨基酸转运子 1 类似蛋白 Vacuolar amino acid transporter 1-like
Cit.24435.1.S1_s_at	2.28971	<u>CX544645</u>		色氨酸合酶 β 链 Tryptophan synthase beta chain chloroplastic-like
Cit.5609.1.S1_at	2.28684	CV884719	Cs9g06530	未定义的蛋白 loc101216953 Uncharacterized loc101216953
Cit.23237.1.S1_s_at	2.28345	CX675186		GDSL 酯酶脂肪酶 at1g29670 类似蛋白 GDSL esterase lipase at1g29670-like
Cit.7448.1.S1_at	2.27904	CX046906	Cs3g09120	细胞色素 p450 Cytochrome p450
Cit.14872.1.S1_at	2.27193	CX675973	Cs3g14190	组蛋白 2 Histone 2
Cit.18133.1.S1_at	2.25545	CX292202	orange1.1t00733	
Cit.10864.1.S1_s_at	2.25158	<u>CV706080</u>	Cs7g01980	DNA 伤害修复耐受蛋白 drt100 DNA-damage-repair toleration protein drt100
Cit.9446.1.S1_s_at	2.24920	CF829712	Cs6g22080	脱落酸受体 pyl14 类似蛋白 Abscisic acid receptor pyl14-like
Cit.20412.1.S1_s_at	2.24904	CX637693	Cs1g26330	碱性内切几丁质酶类似蛋白 Basic endochitinase-like protein
Cit.5984.1.S1_at	2.24555	<u>CX543755</u>	Cs5g29870	乙烯响应转录因子 1b 类似蛋白 Ethylene-responsive transcription factor 1b-like
Cit.5180.1.S1_s_at	2.24288	CB290234	Cs3g27760	3-羟基-3-甲基戊二酰还原酶 2 3-hydroxy-3-methylglutaryl reductase 2
Cit.14210.1.S1_at	2.24073	CX046019	Cs9g06170	碱性 7S 球蛋白 2 前体 Basic 7S globulin 2 precursor small
Cit.4810.1.S1_at	2.23568	CX043799	Cs9g10650	乙烯响应转录因子 1b 类似蛋白 Ethylene-responsive transcription factor 1b-like

续表 1

探针编号 Probe ID	变化倍数 Fold change	代表的公共 ID Representative public ID*	基因组 ID Genome ID	基因注释 Annotation
Cit.14461.1.S1_at	2.22814	CX044061	orange1.1t00550	转录因子 MYC2 类似蛋白 Transcription factor MYC2-like
Cit.6364.1.S1_s_at	2.22119	CX640151	Cs8g04860	p27 类似蛋白 p27-like protein
Cit.3315.1.S1_at	2.21412	CV885206	Cs2g12130	乙酰乳酸合酶小亚基 Acetolactate synthase small subunit chloroplastic-like
Cit.15470.1.S1_at	2.19507	CX069770		蛋白 Protein
Cit.22787.1.S1_at	2.19447	CN186649	Cs6g21990	可能的 WRKY 转录因子 3 类似蛋白 Probable WRKY transcription factor 3-like
Cit.6349.1.S1_at	2.19096	<u>CV704972</u>	Cs7g18810	转录因子 pif5 类似蛋白 Transcription factor pif5-like
Cit.3515.1.S1_s_at	2.19091	CX676163	Cs8g05170	细胞周期蛋白 D3 Cyclin D3
Cit.5087.1.S1_at	2.18729	CB610855	Cs1g05810	羟基肉桂酰/奎尼酸莽草酸 Hydroxycinnamoyl- quinate shikimate partial
Cit.2229.1.S1_at	2.182	<u>CV707438</u>	Cs8g09090	富含脯氨酸的蛋白质 4 Proline-rich protein 4-partial
Cit.11433.1.S1_at	2.17917	CF833279	Cs7g04900	蛋白 Protein
Cit.1891.1.S1_at	2.17107	CX297083	Cs7g07640	
Cit.19706.1.S1_at	2.16189	CK938121	Cs1g03390	同源框亮氨酸拉链蛋白 hat3 类似蛋白 Homeobox-leucine zipper protein hat3-like
Cit.32235.1.S1_at	2.1588	CX289519	Cs4g09380	驱动蛋白类似蛋白 kif15 Kinesin-like protein kif15
Cit.16554.1.S1_at	2.15535	<u>CV708434</u>	Cs2g14170	锌指蛋白 constans 类似蛋白 14 类似蛋白 Zinc finger protein constans-like 14-like
Cit.5864.1.S1_at	2.15499	CX070958	Cs6g16880	细胞周期蛋白 b Cyclin b
Cit.14584.1.S1_at	2.15295	CX069946	Cs3g23170	转录因子 lhw 类似蛋白 Transcription factor lhw-like
Cit.4697.1.S1_at	2.14973	<u>CX542932</u>	Cs2g14170	锌指蛋白 constans 类似蛋白 14 类似蛋白 Zinc finger protein constans-like 14-like
Cit.10056.1.S1_at	2.14743	<u>CX543411</u>	Cs1g20530	1-脱氧-D-木酮糖-5磷酸合酶 1-deoxy-d-xylulose 5-phosphate synthase
Cit.15137.1.S1_at	2.14216	<u>CD575523</u>	orange1.1t02389	依赖活性腺苷甲硫氨酸的甲基转移酶 S-adenosylmethionine-dependent methyltransferase
Cit.14919.1.S1_s_at	2.13789	CV712692	Cs3g07780	植物磺胺素 6 类似蛋白 Phytosulfokines 6-like
Cit.4426.1.S1_at	2.13789	CX665915	Cs7g06030	尿黑酸香叶酰香叶酰转移酶 Homogentisate geranylgeranyl transferase
Cit.27164.1.S1_s_at	2.13634	CV718768	Cs3g20030	A2 型有丝分裂细胞周期蛋白 Mitotic cyclin A2-type
Cit.30941.1.S1_at	2.1315	CX072849	Cs1g25300	查尔酮/黄酮异构酶家族蛋白 Chalcone-flavanone isomerase family protein
Cit.9570.1.S1_at	2.12722	<u>CV711517</u>	orange1.1t02003	Exordium 类似蛋白 2 Protein exordium like 2
Cit.48.1.S1_s_at	2.12418	CN187703		DNA 结合蛋白 DNA binding protein
Cit.10054.1.S1_s_at	2.12353	<u>CX543412</u>	Cs1g20530	1-脱氧-D-木酮糖-5磷酸合酶 1-deoxy-d-xylulose 5-phosphate synthase
Cit.35761.1.S1_at	2.11985	CB250340	Cs7g04390	硝酸盐转运子类似蛋白 Nitrate transporter-like
Cit.13156.1.S1_s_at	2.11706	CF836362	Cs5g09850	
Cit.13671.1.S1_s_at	2.11437	CN192429	Cs5g30850	硫酸盐转运子类似蛋白 Sulfate transporter-like
Cit.19751.1.S1_s_at	2.11382	DN619629	orange1.1t01993	White-brown 复合体 ABC 转运子家族蛋白 White-brown-complex abc transporter family
Cit.18377.1.S1_at	2.1131	CB610482	Cs5g25140	转导蛋白类似蛋白 3 类似蛋白 Transducin beta-like protein 3-like
Cit.5636.1.S1_s_at	2.10398	CX674585	Cs9g08100	生长素诱导蛋白 Auxin-induced protein
Cit.36875.1.S1_at	2.10301	<u>CV711953</u>	Cs7g08080	IAA-氨基酸水解酶 ilr1 类似蛋白 4 类似蛋白 IAA-amino acid hydrolase ilr1-like 4-like
Cit.29914.1.S1_s_at	2.10244	<u>CV706591</u>	orange1.1t02024	微粒体 delta-12 油酸酯去饱和酶 Microsomal delta-12 oleate desaturase
Cit.13688.1.S1_at	2.09853	CN191024	Cs4g18580	
Cit.6823.1.S1_s_at	2.09115	CV884804	Cs9g09710	
Cit.38512.1.S1_at	2.0901	CF509240	Cs7g12380	尿苷/胞嘧啶激酶 c 类似蛋白 Uridine-cytidine kinase c-like
Cit.26697.1.S1_s_at	2.08862	CX045895		几丁质酶 2 类似蛋白 Chitinase 2-like
Cit.28962.1.S1_at	2.08467	CX635438		早期结瘤素类似蛋白 1 类似蛋白 Early nodulin-like protein 1-like
Cit.26593.1.S1_at	2.08293	CN190606	Cs3g04540	未命名蛋白 Unnamed protein product
Cit.27015.1.S1_at	2.07935	CV716877	Cs8g03620	假定蛋白 PRUPE_ppa021781mg Hypothetical protein PRUPE_ppa021781mg
Cit.36070.1.S1_at	2.07739	CF835561	Cs8g12450	GMP 合酶 GMP synthase
Cit.1013.1.S1_s_at	2.0745	CX046914	Cs4g05490	肌醇半乳糖苷-蔗糖半乳糖基转移酶 6 Galactinol-sucrose galactosyltransferase 6
Cit.12518.1.S1_at	2.07372	CX637378	orange1.1t01952	蛋白 Protein
Cit.37460.1.S1_at	2.0734	CO913159	Cs3g25730	半乳糖氧化酶类似蛋白 Galactose oxidase-like
Cit.28020.1.S1_at	2.05883	CX672036	Cs5g16310	黄酮 3-双加氧酶类似蛋白 Flavanone 3-dioxygenase-like
Cit.15111.1.S1_at	2.05796	CX665223	Cs5g05870	短链脱氢酶 tic 类似蛋白 Short-chain dehydrogenase tic chloroplastic-like
Cit.15705.1.S1_at	2.05732	CK936115		

续表 1

探针编号 Probe ID	变化倍数 Fold change	代表的公共 ID Representative public ID*	基因组 ID Genome ID	基因注释 Annotation
Cit.32450.1.S1_at	2.0555	CX291414	Cs6g09800	蛋白 Protein
Cit.2093.1.S1_s_at	2.05363	CX071708	Cs6g21460	α 扩张蛋白 5 Alpha-expansin 5
Cit.11026.1.S1_at	2.0522	CX299241	Cs7g02820	包含茉莉酸 ZIM 结构域的蛋白 10 Jasmonate ZIM domain-containing protein 10
Cit.10380.1.S1_at	2.04479	CX638788	Cs5g13820	γ -谷酰基水解酶 1 Gamma-glutamyl hydrolase 1
Cit.25840.1.S1_s_at	2.04412	CB292087		White-brown 复合体 ABC 转运子家族蛋白 White-brown-complex abc transporter family
Cit.1435.1.S1_at	2.03336	CV886253	Cs2g07240	橙花叔醇合酶 Nerolidol synthase
Cit.32326.1.S1_at	2.03275	CX290617	Cs2g05730	Squamosa 启动子结合蛋白 1 类似蛋白 Squamosa promoter-binding protein 1-like
Cit.24683.1.S1_at	2.02987	CX638000		
Cit.30912.1.S1_at	2.02635	CX047751	orange1.1t00182	GATA 转录因子 2 类似蛋白 GATA transcription factor 2-like
Cit.24211.1.S1_s_at	2.02151	<u>CD575443</u>	Cs7g09640	细胞色素 p450 Cytochrome p450
Cit.6094.1.S1_s_at	2.01378	CN182579	Cs6g21120	转录因子 Transcription factor
Cit.27449.1.S1_at	2.00884	CX073173	Cs6g08560	未定义的蛋白质 LOC101291842 Uncharacterized protein LOC101291842
Cit.22641.1.S1_s_at	2.00748	CF836843	orange1.1t04274	半乳糖苷 2- α -岩藻糖基转移酶类似蛋白 Galactoside 2-alpha-l-fucosyltransferase-like
Cit.26662.1.S1_at	2.00649	CX043915	Cs2g14110	酰基转移酶类似蛋白 Acyltransferase-like protein chloroplastic-like
Cit.17220.1.S1_at	2.00449	CF828986	Cs2g26550	类似受体的蛋白激酶 hsl1 类似蛋白 Receptor-like protein kinase hsl1-like
Cit.9672.1.S1_s_at	2.00357	CV717371	orange1.1t01320	防御性类似蛋白 6 类似蛋白 Defensin-like protein 6-like
Cit.15630.1.S1_at	-2.00314	CX640129	Cs4g18320	谷氧还蛋白 c6 类似蛋白 Glutaredoxin-c6-like
Cit.18105.1.S1_s_at	-2.01338	CK940099	Cs5g07160	钙离子结合蛋白 cml19 类似蛋白 Calcium-binding protein cml19-like
Cit.5402.1.S1_at	-2.01600	CX044055	Cs8g02940	1-磷脂酰肌醇磷酸二酯酶相关蛋白 1-phosphatidylinositol phosphodiesterase-related protein
Cit.3061.1.S1_at	-2.01814	<u>CV708393</u>		包含 AP2 EFR 结构域的转录因子 AP2 erf domain-containing transcription factor
Cit.3344.1.S1_s_at	-2.02427	<u>CX545657</u>	Cs5g10490	热激转录因子 b-2b Heat stress transcription factor b-2b
Cit.29575.1.S1_s_at	-2.03615	CK935032	Cs4g14890	核酸酶 harbi1 类似蛋白 Nuclease harbi1-like
Cit.17567.1.S1_at	-2.04068	CX301555	orange1.1t03161	未定义的蛋白质 loc101219072 Uncharacterized loc101219072
Cit.15392.1.S1_s_at	-2.04566	CV887374		蛋白 Protein
Cit.18425.1.S1_at	-2.04591	CX288113	Cs6g20270	ABA 转运子 b 家族蛋白 ABC transporter b family member
Cit.18168.1.S1_at	-2.04935	BQ623768	Cs4g04270	假定的蛋白质 PRUPE_ppa014066mg Hypothetical protein PRUPE_ppa014066mg
Cit.18482.1.S1_s_at	-2.05224	CX292437	Cs6g11310	cystm1 家族蛋白 a 类似同形物 x1 cystm1 family protein a-like isoform x1
Cit.16063.1.S1_at	-2.05249	CV886091	Cs5g27170	
Cit.22490.1.S1_s_at	-2.05841	CB293143	Cs4g15360	可能的蛋白磷酸酶 2c 6 类似蛋白 Probable protein phosphatase 2c 6-like
Cit.13374.1.S1_s_at	-2.06018	CB292402	Cs7g03720	E3 泛素-蛋白连接酶 ring1 类似蛋白 E3 ubiquitin-protein ligase ring1-like
Cit.26141.1.S1_s_at	-2.07198	CF837714	Cs6g07690	
Cit.2027.1.S1_s_at	-2.08429	DN617689	Cs2g27610	可能的肌醇半乳糖苷-蔗糖半乳糖基转移酶 5 类似蛋白 Probable galactinol-sucrose galactosyltransferase 5-like
Cit.30477.1.S1_s_at	-2.08532	CV719187		整合酶 Integrase
Cit.5757.1.S1_at	-2.08566	BQ624969	Cs6g07220	双功能抑制子脂质转移蛋白/种子贮藏/2S 白蛋白类似蛋白 Bifunctional inhibitor lipid-transfer protein seed storage 2S albumin-like protein
Cit.24979.1.S1_at	-2.09987	CV717282	Cs4g19940	β -衔接蛋白类似蛋白 a Beta-adaptin-like protein a
Cit.14966.1.S1_at	-2.10291	DN798608	Cs6g20630	超敏反应诱导的响应蛋白 Hypersensitive-induced response protein
Cit.24700.1.S1_at	-2.10687	CX638179	Cs5g12230	Cobra 类似蛋白 4 类似蛋白 Cobra-like protein 4-like
Cit.29929.1.S1_at	-2.10758	CX287152	Cs1g21950	未定义的蛋白质 ycf36 类似蛋白 Uncharacterized protein ycf36-like
Cit.11965.1.S1_at	-2.11595	<u>CD574615</u>		细胞色素 p450 Cytochrome p450
Cit.12682.1.S1_at	-2.12743	DN618117	Cs7g16030	抗病蛋白 rga3 类似蛋白 Disease resistance protein rga3-like
Cit.22135.1.S1_at	-2.13522	CX663453	Cs2g01710	花粉 ole e 1 过敏原和伸展蛋白家族蛋白 Pollen ole e 1 allergen and extensin family protein
Cit.3236.1.S1_at	-2.16897	CK939355	Cs6g21420	可能的钙离子结合蛋白 cml45 类似蛋白 Probable calcium-binding protein cml45-like
Cit.23058.1.S1_s_at	-2.17222	CV716028		钾离子流逆向转运子 4 类似蛋白 K ⁺ efflux antiporter 4-like
Cit.4205.1.S1_at	-2.18519	CF838193	Cs4g16020	细胞质动力蛋白 Cytoplasmic dynein light
Cit.10258.1.S1_s_at	-2.20587	CK935816		蛋白质 Protein
Cit.5514.1.S1_at	-2.21786	CB291292	Cs5g31670	类似 EID1 的 F-box 蛋白 3 类似蛋白 EID1-like F-box protein 3-like

续表 1

探针编号 Probe ID	变化倍数 Fold change	代表的公共 ID Representative public ID*	基因组 ID Genome ID	基因注释 Annotation
Cit.7174.1.S1_at	-2.22189	CV884645	Cs1g01910	
Cit.4030.1.S1_at	-2.22597	CK935223	Cs5g05260	包含 U-box 结构域的蛋白 19 类似蛋白 U-box domain-containing protein 19-like
Cit.5743.1.S1_s_at	-2.23486	CX643231	Cs1g25930	过氧化物酶 64 Peroxidase 64
Cit.3778.1.S1_at	-2.24137	CF836437	Cs4g07040	乙烯响应转录因子 erf017 类似蛋白 Ethylene-responsive transcription factor erf017-like
Cit.6380.1.S1_at	-2.24379	CX674893	Cs9g13330	GDSL 酯酶脂肪酶 exl3 GDSL esterase lipase exl3
Cit.35345.1.S1_s_at	-2.24546	CK938541	Cs2g28750	可能的 galacturonosyltransferase 类似蛋白 9 类似蛋白 Probable galacturonosyltransferase-like 9-like
Cit.10173.1.S1_at	-2.24932	CV715639		
Cit.28980.1.S1_s_at	-2.29443	CX636045	Cs2g17070	果胶酯酶 2 类似蛋白 Pectinesterase 2-like
Cit.2675.1.S1_s_at	-2.29711	CX074577	Cs9g13610	乙烯响应转录因子 5 类似蛋白 Ethylene-responsive transcription factor 5-like
Cit.11756.1.S1_s_at	-2.31097	<u>CX545779</u>	Cs9g12390	Remorin 类似蛋白 Remorin-like protein
Cit.17882.1.S1_s_at	-2.31572	CK936954	Cs6g19280	Constans 1 蛋白 Constans 1
Cit.1496.1.S1_s_at	-2.31856	CN191283	Cs5g26130	NAC 结构域 IPR003441 NAC domain IPR003441
Cit.4491.1.S1_at	-2.34464	CX643923	Cs5g03060	ACC 合酶 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase
Cit.5085.1.S1_at	-2.35285	CX665123	Cs5g06920	未定义的蛋白质 LOC100244084 Uncharacterized protein LOC100244084
Cit.24522.1.S1_s_at	-2.36267	<u>CX546067</u>	Cs5g16540	
Cit.28649.1.S1_at	-2.36548	<u>CV710992</u>	Cs6g19280	Constans 1 蛋白 Constans-1
Cit.1270.1.S1_s_at	-2.38584	DN617716	Cs9g13620	乙烯响应转录因子 5 类似蛋白 Ethylene-responsive transcription factor 5-like
Cit.3693.1.S1_at	-2.40660	DN797794	Cs8g19140	蛋白磷酸酶 2c Protein phosphatase 2c
Cit.13844.1.S1_s_at	-2.40805	CN187848	Cs6g21400	Dof 锌指 Dof zinc finger
Cit.6937.1.S1_at	-2.42502	<u>CX546610</u>		钙调蛋白结合蛋白 Calmodulin binding
Cit.23268.1.S1_s_at	-2.42624	CX078551		木质素生物合成过氧化物酶 Lignin biosynthetic peroxidase
Cit.17450.1.S1_at	-2.43418	CK939746	Cs4g15735	阿拉伯半乳糖肽 22 类似蛋白 Arabinogalactan peptide 22-like
Cit.30583.1.S1_at	-2.44033	CF828654	Cs4g07250	40S 核糖体蛋白 s29 40S ribosomal protein s29
Cit.10058.1.S1_s_at	-2.45143	DN622686	Cs8g20410	天冬酰胺合成酶 Asparagine synthetase
Cit.9421.1.S1_s_at	-2.45329	CV716643	Cs4g03140	木葡聚糖内糖基转移酶水解蛋白 23 类似蛋白 Xyloglucan endotransglucosylase hydrolase protein 23-like
Cit.9419.1.S1_x_at	-2.50454	CX669790	Cs4g03130	木葡聚糖内糖基转移酶水解蛋白 23 类似蛋白 Xyloglucan endotransglucosylase hydrolase protein 23-like
Cit.4026.1.S1_s_at	-2.54132	CK935617	Cs4g11690	钙离子结合蛋白 pbp1 类似蛋白 Calcium-binding protein pbp1-like
Cit.8776.1.S1_x_at	-2.55883	CX075824	Cs9g11770	假定的蛋白质 VITISV_015533 Hypothetical protein VITISV_015533
Cit.3523.1.S1_at	-2.59517	CN190487	Cs4g14890	核酸酶 harbi1 类似蛋白 Nuclease harbi1-like
Cit.30163.1.S1_at	-2.60300	CX296340	Cs3g17890	蛋白质 Protein
Cit.30513.1.S1_x_at	-2.61005	CF507832	Cs4g03140	木葡聚糖内糖基转移酶水解蛋白 23 类似蛋白 Xyloglucan endotransglucosylase hydrolase protein 23-like
Cit.8860.1.S1_s_at	-2.62497	CX636822	Cs3g23070	转录因子 MYB44 类似蛋白 Transcription factor MYB44-like
Cit.10060.1.S1_at	-2.64030	<u>CX545818</u>	Cs8g20410	天冬酰胺合成酶 Asparagine synthetase
Cit.20749.1.S1_s_at	-2.68119	DN798137	Cs9g18020	Pinus taeda anonymous locus 2_85_02 genomic sequence
Cit.35313.1.S1_s_at	-2.69034	CK938925	Cs2g23260	蛋白质 Protein
Cit.17724.1.S1_s_at	-2.71397	CK939135	Cs4g03130	木葡聚糖内糖基转移酶水解蛋白 23 类似蛋白 Xyloglucan endotransglucosylase hydrolase protein 23
Cit.14184.1.S1_at	-2.72779	CN188577	Cs7g06310	磷酸酶 b 类似蛋白互作蛋白激酶 Calcineurin b-like protein-interacting protein kinase
Cit.28237.1.S1_at	-2.74910	DN618720	Cs4g18310	
Cit.3694.1.S1_at	-2.76933	<u>CX546150</u>		蛋白磷酸酶 2c Protein phosphatase 2c
Cit.16104.1.S1_at	-2.85518	<u>CV707169</u>	orange1.1t05190	
Cit.12245.1.S1_at	-2.86253	CX670772	Cs3g17390	蛋白质 Protein
Cit.14324.1.S1_s_at	-2.89011	<u>CD576701</u>		保守的假定蛋白 Conserved hypothetical protein
Cit.15757.1.S1_at	-2.90501	CX077288	Cs5g10480	Bon1 作用蛋白 2 Bon1-associated protein 2
Cit.4752.1.S1_s_at	-3.03570	CX642218	orange1.1t03155	蛋白质 Protein
Cit.30692.1.S1_s_at	-3.05449	CK939426	Cs3g17390	线粒体二羧酸根阴离子载体 Mitochondrial dicarboxylate carrier
Cit.1200.1.S1_at	-3.06541	CX292655	Cs5g10550	奇异果甜蛋白类似蛋白 Thaumatin-like protein
Cit.5168.1.S1_at	-3.20061	CX636014		海藻糖 - 6 - 磷酸盐磷酸酶 Trehalose-6-phosphate phosphatase

注: 带下划线标注的公共 ID 来自 ‘*Poncirus trifoliata* CTV-challenged cDNA library’。

Note: The public IDs underlined are from ‘*Poncirus trifoliata* CTV-challenged cDNA library’.

应用 BLAST2GO 对差异表达的基因进行功能注释, 注释成功 268 条序列 (其中 197 条上调, 71 条下调)。上调比值大于 5 倍的有 15 个, 其中差异表达量最大的是一个编码富甘氨酸蛋白质的基因 (Cit.8601.1.S1_s_at), 上调多达 22.7 倍, 其次是一个编码脂质转移酶的基因, 上调 10.5 倍。下调基因中比值 < -3 的有 4 个, 其中编码海藻糖 - 6 - 磷酸盐磷酸酶的基因 (Cit.5168.1.S1_at) 下调倍数达 -3.2 倍, 编码奇异果甜蛋白类似蛋白的基因 (Cit.1200.1.S1_at) 下调 -3.1 倍, 编码线粒体二羧酸阴离子载体的基因 (Cit.30692.1.S1_s_at) 下调 -3.1 倍, 编码一个无注释的蛋白质的基因 (Cit.4752.1.S1_s_at) 下调 -3.0 倍 (表 1)。从基因功能注释结果不难看出, 很多差异表达基因的产物是抗逆防御相关蛋白, 如: 脂质转移酶、 β -1,3-葡聚糖酶、几丁质酶、过氧化物酶、核糖核酸酶类似蛋白、奇异果甜蛋白等。还有很多与激素代谢或相应有关, 如: 9-顺式-环氧类胡萝卜素双加氧酶、吲哚-3-乙酸-氨基合成酶、赤霉素 2- β -双加氧酶、赤霉素调节蛋白、乙烯响应因子等。基因产物与细胞壁形成或成分相关的蛋白也较多。比如富甘氨酸蛋白质就是细胞壁中重要的糖蛋白, 编码该蛋白的基因的变化倍数最大。另外, 一些编码细胞壁重要组分蛋白 (如富含脯氨酸的蛋白质、细胞壁蛋白类似蛋白、扩张蛋白等) 的基因也有明显差异表达。

差异表达基因 GO (Gene Ontology, 基因功能归类) 分析结果 (图 3) 显示: 依照生物学过程

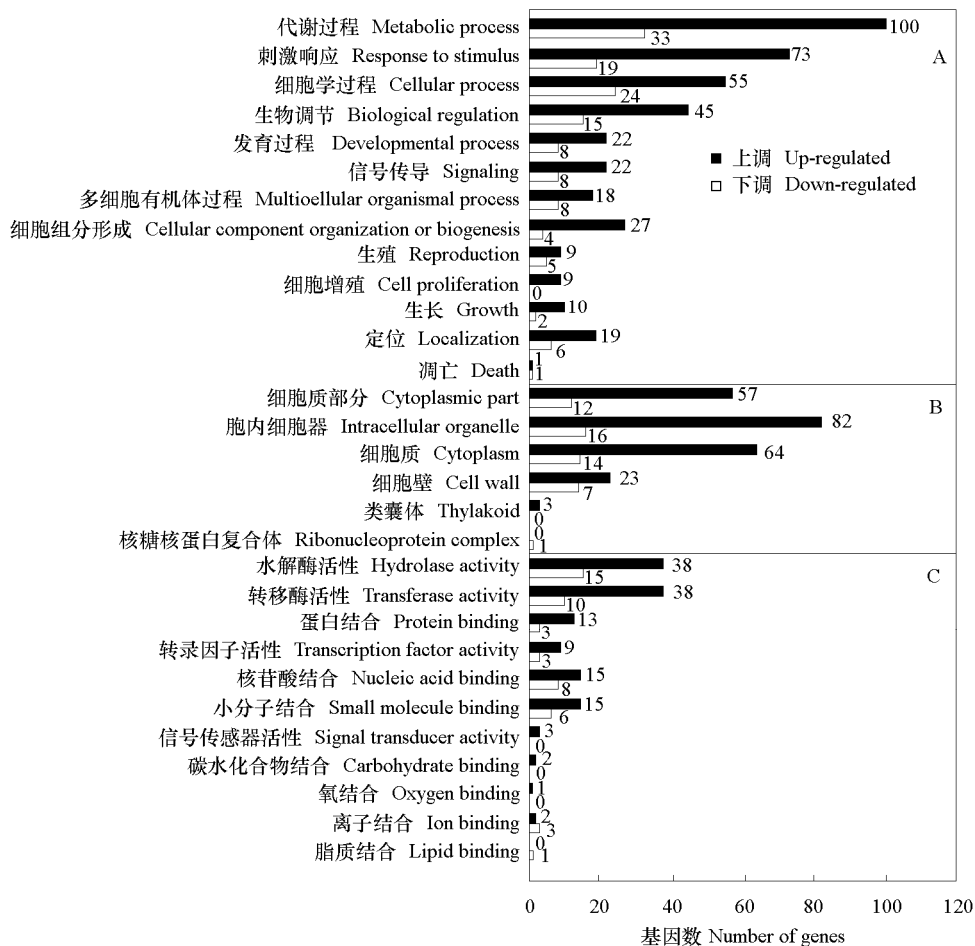


图 3 CTV 响应基因的功能分类

A: 生物学过程 (二级水平); B: 细胞组分 (五级水平) 归类结果; C: 分子功能 (三级水平)。

Fig. 3 GO (Gene Ontology) classification of CTV responsive genes

A: Classification according to biological process (2nd level); B: Classification according to cellular component (5th level);

C: Classification according to molecular function (3th level).

分类, 这些基因主要涉及响应刺激、生物调节、发育过程、信号传导等过程; 根据细胞组分类, 这些基因所编码的蛋白质主要分布在细胞质、细胞器、细胞壁、类囊体等部位; 依据分子功能分类, 这些基因的产物可分为水解酶、转移酶、转录因子、蛋白质和核苷酸结合蛋白等, 其中编码具有转移酶和水解酶活性蛋白质的基因所占比例最大。

3 讨论

本研究利用基因芯片技术首次从全基因组范围内研究了枳感染衰退病强毒株 CT14 后的基因表达差异。结果表明, 枳感染 CTV 后的转录谱变化不大, 这可能与枳对 CTV 的高抗性有关。

在本研究发现的 295 个 CTV 响应基因中, 有 41 个也在枳感染 CTV 后的 cDNA 文库 (*Poncirus trifoliata* CTV-challenged cDNA library, 表 1) 中发现, 占 13.9%, 这在一定程度上说明本研究结果的可靠性。Affymetrix 柑橘芯片主要是依据甜橙和枳的 cDNA 序列制成, 其中甜橙占绝大多数。枳和甜橙虽然可以杂交, 但分属不同的属, 基因序列有一定差异, 尤其是进化速度快的基因, 这种差异会导致枳的基因不易和甜橙的探针杂交, 可能会漏掉部分进化速度快的差异表达基因。

枳被认为高抗柑橘 CTV, 携带显性抗性基因 *Ctv* (Deng et al., 2001; Yang et al., 2003)。*Ctv* 基因图位克隆已经获得了 121 kb 左右的片段 (Yang et al., 2001), 含 10 个抗病相关基因, 但是转相关基因的植株并没有明显的抗性 (Rai, 2006; Talon & Gmitter, 2008)。故枳抗 CTV 的机制依然不甚清楚。在本研究发现的差异表达基因中, 与抗逆防御相关的基因最多 (表 1, 图 3), 其中, 参与植物对生物或非生物逆境胁迫响应的脂质转移蛋白基因的表达量升高 10.5 倍, β -1,3-葡聚糖酶、几丁质酶、过氧化物酶、核糖核酸酶类似蛋白、奇异果甜蛋白 (Loon, 1997; Anand et al., 2003) 以及其他一些病程相关蛋白基因的表达量也显著升高, 这可能与枳对 CTV 的高抗性有关, 但不一定是特异相关, 因为对 CTV 最敏感的柑橘品种墨西哥莱檬感染 CTV 后也有 28% 的差异表达基因与抗逆防御相关 (Gandía et al., 2007)。参与植物防御反应的转录因子家族中的 bZIP (Vinson et al., 2006)、MYB (Abe et al., 1997, 2003)、以及一些锌指蛋白 (Epple et al., 2003) 在受 CTV 侵染后, 表达量也发生显著变化。植物抗病反应具有系统性, 牵涉到病原识别、信号传导以及抗病生化反应, 如加固细胞壁、产生抗毒素、表达抗病蛋白等多种途径 (Kang et al., 2005; van Loon et al., 2006), 因此, 枳抗 CTV 的机制可能远比已知的复杂。

植物激素参与了枳对 CTV 的反应。乙烯参与植物对生物和逆境胁迫的反应 (Bleecker & Kende, 2000), *ERF* 在本研究中表达量明显增加, 该基因受茉莉酸 JA 和 ET 的共同诱导, *ERF* 属于 EREBP 转录因子家族, 是乙烯和茉莉酸防卫反应途径的汇合点。在拟南芥中过量表达 *ERF1* 可增强抗病性 (Berrocal-Lobo et al., 2002)。此外, ACC 合成酶基因和乙烯受体基因的表达量也增加。乙烯受体、ACC 合成酶基因在感染 CTV 的墨西哥莱檬中同样显著上调 (Gandía et al., 2007)。茉莉酸 (JA) 作为抗逆信号分子 (Schenk et al., 2000) 调节植物在机械伤害、病虫害、干旱、盐胁迫下的抗逆反应。本研究中发现编码含茉莉酸受体 ZIM 结构域的蛋白 10 的基因 (Chini et al., 2009) 受 CTV 侵染上调表达 2 倍以上, ZIM 结构域是茉莉酸传导途径重要组分 COI1 的靶位点。此外, 激素代谢相关基因如编码赤霉素 2- β -双加氧酶、赤霉素调节家族蛋白 (Thomas et al., 1999)、脱落酸生物合成关键酶 9-顺式-环氧类胡萝卜素双加氧酶 (Iuchi et al., 2001; Aswath et al., 2005)、水杨酸氧甲基转移酶 (Ross et al., 1999; Zubieta et al., 2003)、油菜素内酯增强表达蛋白 (Friedrichsen et al., 2002)、吲哚乙酸-氨基酸水解酶、细胞分裂素脱氢酶等的表达量变化显著。激素调控基因如受细胞分裂素负调节的应答调节因子 *ARR* (Kiba et al., 2003; To et al., 2004)、受 ABA 诱导的 *MYC2* (Abe et al., 2003) 等表达量都发生改变。

细胞壁是植物特有的结构,在维持植物形态结构和抗逆防御反应上起重要作用。细胞壁糖蛋白相关基因,如富甘氨酸蛋白基因(*Glycine-rich protein, GRP*)受病毒入侵诱导(Cornels et al., 2000; Stephen et al., 2003),同样地,枳*GRP*的表达被CTV上调22.7倍。其他如编码富含脯氨酸的蛋白质、细胞壁蛋白类似蛋白、扩张蛋白的基因在受CTV侵染以后,均表现为上调。

本研究中以对CTV高抗的枳为材料,利用基因芯片技术分析枳感染CTV后的基因表达情况,所得结果为揭示枳抗CTV的机理提供了转录组学线索。

References

- Abe H, Urao T, Ito T, Seki M, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. 2003. *Arabidopsis AtMYC2* (bHLH) and *AtMYB2* (MYB) function as transcriptional activators in abscisic acid signaling. *The Plant Cell*, 15: 63 - 78.
- Abe H, Yamaguchi-Shinozaki K, Urao T, Iwasaki T, Hosokawa D, Shinozaki K. 1997. Role of *Arabidopsis* MYC and MYB homologs in drought- and abscisic acid-regulated gene expression. *The Plant Cell*, 9: 1859 - 1868.
- Anand A, Zhou T, Trick H N, Gill B S, Bockus W W, Muthukrishnan S. 2003. Greenhouse and field testing of transgenic wheat plants stably expressing genes for thaumatin-like protein, chitinase and glucanase against *Fusarium graminearum*. *Journal of Experimental Botany*, 54: 1101 - 1111.
- Aswath C R, Kim S H, Mo S Y, Kim D H. 2005. Transgenic plants of creeping bent grass harboring the stress inducible gene, 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase, are highly tolerant to drought and NaCl stress. *Plant Growth Regulation*, 47: 129 - 139.
- Berrocal-Lobo M, Molina A, Solano R. 2002. Constitutive expression of *ETHYLENE-RESPONSE-FACTOR1* in *Arabidopsis* confers resistance to several necrotrophic fungi. *The Plant Journal*, 29: 23 - 32.
- Bleecker A B, Kende H. 2000. Ethylene: A gaseous signal molecule in plants. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 16: 1 - 18.
- Chini A, Boter M, Solano R. 2009. Plant oxylipins: COI1/JAZs/MYC2 as the core jasmonic acid-signalling module. *The FEBS Journal*, 276: 4682 - 4692.
- Cornels H, Ichinose Y, Barz W. 2000. Characterization of cDNAs encoding two glycine-rich proteins in chickpea (*Cicer arietinum* L.): Accumulation in response to fungal infection and other stress factors. *Plant Science: An International Journal of Experimental Plant Biology*, 154: 83 - 88.
- Costa A S, Muller G W. 1980. Tristeza control by cross protection: A U.S.-Brazil cooperation success. *Plant Disease*, 64: 538 - 541.
- Deng Z, Tao Q, Chang Y L, Huang S, Ling P, Yu C, Chen C, Gmitter F G, Zhang H B. 2001. Construction of a bacterial artificial chromosome (BAC) library for citrus and identification of BAC contigs containing resistance gene candidates. *Theoretical and Applied Genetics*, 102: 1177 - 1184.
- Epple P, Mack A A, Morris V R F, Dangel J L. 2003. Antagonistic control of oxidative stress-induced cell death in *Arabidopsis* by two related, plant-specific zinc finger proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100: 6831 - 6836.
- Friedrichsen D M, Nemhauser J, Muramitsu T, Maloof J N, Alonso J, Ecker J R, Furuya M, Chory J. 2002. Three redundant brassinosteroid early response genes encode putative bHLH transcription factors required for normal growth. *Genetics*, 162: 1445 - 1456.
- Gandia M, Conesa A, Ancillo G, Gadea J, Forment J, Pallás V, Flores R, Duran-Vila N, Moreno P, Guerri J. 2007. Transcriptional response of *Citrus aurantifolia* to infection by *Citrus tristeza virus*. *Virology*, 367: 298 - 306.
- Iuchi S, Kobayashi M, Tajiri T, Naramoto M, Seki M, Kato T, Tabata S, Kakubari Y, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. 2001. Regulation of drought tolerance by gene manipulation of 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase, a key enzyme in abscisic acid biosynthesis in *Arabidopsis*. *The Plant Journal: For Cell and Molecular Biology*, 27: 325 - 333.
- Kang B C, Yeam I, Jahn M M. 2005. Genetics of plant virus resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 43: 581 - 621.
- Kiba T, Yamada H, Sato S, Kato T, Tabata S, Yamashino T, Mizuno T. 2003. The type-A response regulator, ARR15, acts as a negative regulator in the cytokinin-mediated signal transduction in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiology*, 44: 868 - 874.
- Loon L C V. 1997. Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-related proteins. *European Journal of Plant Pathology*, 103: 753 - 765.
- Rai M. 2006. Refinement of the *Citrus tristeza virus* resistance gene (*Ctv*) positional map in *Poncirus trifoliata* and generation of transgenic grapefruit (*Citrus paradisi*) plant lines with candidate resistance genes in this region. *Plant Molecular Biology*, 61: 399 - 414.

- Ross J R, Nam K H, D'Auria J C, Pichersky E. 1999. S-Adenosyl-L-methionine:salicylic acid carboxyl methyltransferase, an enzyme involved in floral scent production and plant defense, represents a new class of plant methyltransferases. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 367: 9 - 16.
- Schenk P M, Kazan K, Wilson I, Anderson J P, Richmond T, Somerville S C, Manners J M. 2000. Coordinated plant defense responses in *Arabidopsis* revealed by microarray analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97: 11655 - 11660.
- Stephen J R, Dent K C, Finch-Savage W E. 2003. A cDNA encoding a cold-induced glycine-rich RNA binding protein from *Prunus avium* expressed in embryonic axes. *Gene*, 320: 177 - 183.
- Talon M, Gmitter F G. 2008. Citrus genomics. *International Journal of Plant Genomics*, doi: 10.1155/2008/528361.
- Thomas S G, Phillips A L, Hedden P. 1999. Molecular cloning and functional expression of gibberellin 2-oxidases, multifunctional enzymes involved in gibberellin deactivation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96: 4698 - 4703.
- To J P C, Haberger G, Ferreira F J, Deruère J, Mason M G, Schaller G E, Alonso J M, Ecker J R, Kieber J J. 2004. Type-A *Arabidopsis* response regulators are partially redundant negative regulators of cytokinin signaling. *The Plant Cell*, 16: 658 - 671.
- van Loon L C, Rep M, Pieterse C M J. 2006. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. *Annual Review of Phytopathology*, 44: 135 - 162.
- Vinson C, Acharya A, Taparowsky E J. 2006. Deciphering B-ZIP transcription factor interactions *in vitro* and *in vivo*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1759: 4 - 12.
- Xu Q, Chen L L, Ruan X, Chen D, Zhu A, Chen C, Bertrand D, Jiao W B, Hao B H, Lyon M P, Chen J, Gao S, Xing F, Lan H, Chang J W, Ge X, Lei Y, Hu Q, Miao Y, Wang L, Xiao S, Biswas M K, Zeng W, Guo F, Cao H, Yang X, Xu X W, Cheng Y J, Xu J, Liu J H, Luo O J, Tang Z, Guo W W, Kuang H, Zhang H Y, Roose M L, Nagarajan N, Deng X X, Ruan Y. 2012. The draft genome of sweet orange (*Citrus sinensis*). *Nature Genetics*, 45: 59 - 66.
- Yang Jia-wei. 2010. Construction of RNAi vectors of *Citrus tristeza virus*, genetic transformation and evaluation of transgenic plant [M. D. Dissertation]. Chongqing: Southwest University. (in Chinese)
- 阳佳位. 2010. 柑橘衰退病 RNAi 载体构建、遗传转化与转基因植株的评价 [硕士论文]. 重庆: 西南大学.
- Yang Z N, Ye X R, Molina J, Roose M L, Mirkov T E. 2003. Sequence analysis of a 282-kilobase region surrounding the *Citrus tristeza virus* resistance gene (*Ctv*) locus in *Poncirus trifoliata* L. Raf. *Plant Physiology*, 131: 482 - 492.
- Yang Z N, Ye X R, Choi S, Molina J, Moonan F, Wing R A, Roose M L, Mirkov T E. 2001. Construction of a 1.2-Mb contig including the *Citrus tristeza virus* resistance gene locus using a bacterial artificial chromosome library of *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. *Genome National Research Council Canada Conseil National de Recherches Canada*, 44: 382 - 393.
- Zhou Y, Zhou C, Song Z, Liu K, Yang F. 2007. Characterization of *Citrus tristeza virus* isolates by indicators and molecular biology methods. *Agricultural Sciences in China*, 6: 573 - 579.
- Zubieta C, Ross J R, Koscheski P, Yang Y, Pichersky E, Noel J P. 2003. Structural basis for substrate recognition in the salicylic acid carboxyl methyltransferase family. *The Plant Cell*, 15: 1704 - 1716.