

大学英语四级考试 成绩报告单



姓名：董美超

学校：内蒙古民族大学

院（系）：农学院

准考证号：

身份证号：150404198502080028

考试时间：2006 年 12 月



总分：446

听力 (35%)	阅读 (35%)	综合 (10%)	写作和翻译 (20%)
149	178	39	80

成绩单编号：062115013001228

教育部高等教育司

委托发布单位：全国大学英语四、六级考试委员会

考委会网址：www.cet.edu.cn

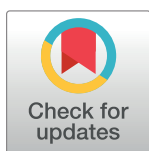
RESEARCH ARTICLE

Transcriptome differential expression analysis of defoliation in different lemon varieties under drought treatment

Meichao Dong¹, Tuo Yin², Dongguo Zhou¹, Hanyao Zhang², Fan Yang¹, Shaohua Wang¹, Chunrui Long¹, Xiaomeng Fu¹, Hongming Liu¹, Lina Guo¹, Junyan Gao^{1*}

1 Institute of Tropical and Subtropical Cash Crops, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Baoshan, China, **2** The Key Laboratory of Biodiversity Conservation of Southwest China, National Forestry and Grassland Administration, College of Forestry, Southwest Forestry University, Kunming, China

* rjsgjy@yaas.org.cn



OPEN ACCESS

Citation: Dong M, Yin T, Zhou D, Zhang H, Yang F, Wang S, et al. (2024) Transcriptome differential expression analysis of defoliation in different lemon varieties under drought treatment. PLoS ONE 19(4): e0299261. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0299261>

Editor: Muhammad Qasim Shahid, South China Agricultural University, CHINA

Received: November 15, 2023

Accepted: February 7, 2024

Published: April 18, 2024

Copyright: © 2024 Dong et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: The C. limon genome (v1.0) and annotation files of lemon are openly available in the Genome website (https://www.citrusgenomedb.org/browse/index.html?data=data/Climon_Alt_v1.0_f). RNA-Seq data can be found with accession numbers: PRJNA1033435.

Funding: This research was funded by National Natural Science Foundation of China (No.31960574); Talent Revitalization Program (2022RC001).

Abstract

'Allen Eureka' is a bud variety of Eureka lemon with excellent fruiting traits, but severe winter defoliation affects the following year's yield, and the response mechanism of lemon defoliation is currently unknown. Two lemon cultivars ('Allen Eureka' and 'Yunning No. 1') with different defoliation traits were used as materials to investigate the molecular regulatory mechanisms of different leaf abscission periods in lemons. The petiole abscission zone was collected at three different defoliation stages, namely, the predefoliation stage (k15), the middefoliation stage (k30), and the postdefoliation stage (k45). Transcriptome sequencing was performed to analyze the gene expression differences between these two cultivars. A total of 1141, 2695, and 1433 differentially expressed genes (DEGs) were obtained in k15, k30, and k45, respectively, and the number of DEGs in k30 was the largest. GO analysis revealed that the DEGs between the two cultivars were mainly enriched in processes related to hydrolase activity, chitinase activity, oxidoreductase activity, and transcription regulator activity in the defoliation stages. KEGG analysis showed that the DEGs were concentrated in k30, which involved plant hormone signal transduction, phenylpropanoid biosynthesis, and biosynthesis of amino acids. The expression trends of some DEGs suggested their roles in regulating defoliation in Lemon. Seven genes were obtained by WGCNA, including sorbitol dehydrogenase (*CL9G068822012_alt*, *CL9G068820012_alt*, *CL9G068818012_alt*), abscisic acid 8'-hydroxylase (*CL8G064053012_alt*, *CL8G064054012_alt*), and asparagine synthetase (*CL8G065162012_alt*, *CL8G065151012_alt*), suggesting that these genes may be involved in the regulation of lemon leaf abscission.

1. Introduction

Lemon (*Citrus limon* (L.) Burm. F.) is an evergreen fruit tree of the citrus genus (*Citrus medica* L.) in the family Rutaceae. It may be a natural hybrid of lime (*C. aurantium*) and citron (*C.*



项目批准号	31960574
申请代码	C150101
归口管理部门	
依托单位代码	65023108B1098-2068



3 1960574 10 10349

国家自然科学基金委员会 资助项目计划书

资助类别：地区科学基金项目

亚类说明：

附注说明：

项目名称：艾伦尤力克柠檬异常落叶的生理及分子机制研究

直接费用：40万元 执行年限：2020.01-2023.12

负责人：董美超

通讯地址：云南省德宏州瑞丽市长青路13号

邮政编码： 电 话：0692-6660156

电子邮件：283743007@qq.com

依托单位：云南省农业科学院

联系人：黄锦 电 话：0871-65127744

填表日期：2019年08月21日

国家自然科学基金委员会制



国家自然科学基金委员会资助项目计划书填报说明

- 一、项目负责人收到《关于国家自然科学基金资助项目批准及有关事项的通知》（以下简称《批准通知》）后，请认真阅读本填报说明，参照国家自然科学基金相关项目管理办法及《国家自然科学基金资助项目资金管理办法》（请查阅国家自然科学基金委员会官方网站首页“政策法规”栏目），按《批准通知》的要求认真填写和提交《国家自然科学基金委员会资助项目计划书》（以下简称《计划书》）。
- 二、填写《计划书》时要求科学严谨、实事求是、表述清晰、准确。《计划书》经国家自然科学基金委员会相关项目管理部门审核批准后，将作为项目研究计划执行和检查、验收的依据。
- 三、《计划书》各部分填写要求如下：
 - （一）简表：由系统自动生成。
 - （二）摘要及关键词：各类获资助项目都必须填写中、英文摘要及关键词。
 - （三）项目组主要成员：计划书中列出姓名的项目组主要成员由系统自动生成，与申请书原成员保持一致，不可随意调整。如果批准通知中“项目评审意见及修改意见表”中“对研究方案的修改意见”栏目有调整项目组成员相关要求的，待项目开始执行后，按照项目成员变更程序另行办理。
 - （四）资金预算表：根据批准资助的直接费用，按照《国家自然科学基金项目预算表编制说明》填报资金预算表和预算说明书。国家重大科研仪器研制项目、重大项目还应按照预算评审后批复的直接费用各科目金额填报资金预算表、预算说明书及相应的预算明细表。
 - （五）正文：
 1. 面上项目、青年科学基金项目、地区科学基金项目：如果《批准通知》中没有修改要求的，只需选择“研究内容和研究目标按照申请书执行”即可；如果《批准通知》中“项目评审意见及修改意见表”中“对研究方案的修改意见”栏目明确要求调整研究期限和研究内容等的，须选择“根据研究方案修改意见更改”并填报相关修改内容。
 2. 重点项目、重点国际（地区）合作研究项目、重大项目、国家重大科研仪器研制项目：须选择“根据研究方案修改意见更改”，根据《批准通知》的要求填写研究（研制）内容，不得自行降低、更改研究目标（或仪器研制的技术性能与主要技术指标以及验收技术指标）或缩减研究（研制）内容。此外，还要突出以下几点：
 - （1）研究的难点和在实施过程中可能遇到的问题（或仪器研制风险），拟采用的研究（研制）方案和技术路线；
 - （2）项目主要参与者分工，合作研究单位之间的关系与分工，重大项目还需说明课题之间的关联；
 - （3）详细的年度研究（研制）计划。

3. 国家杰出青年科学基金、优秀青年科学基金和海外及港澳学者合作研究基金项目：须选择“根据研究方案修改意见更改”，按下列提纲撰写：
 - (1) 研究方向；
 - (2) 结合国内外研究现状，说明研究工作的学术思想和科学意义（限两个页面）；
 - (3) 研究内容、研究方案及预期目标（限两个页面）；
 - (4) 年度研究计划；
 - (5) 研究队伍的组成情况。
4. 国家自然科学基金基础科学中心项目：须选择“根据研究方案修改意见更改”，应当根据评审委员会和现场考察专家组的意见和建议，进一步完善并细化研究计划，作为评估和验收的依据。按下列提纲撰写：
 - (1) 五年拟开展的研究工作（包括主要研究方向、关键科学问题与研究内容）；
 - (2) 研究方案（包括骨干成员之间的分工及合作方式、学科交叉融合研究计划等）；
 - (3) 年度研究计划；
 - (4) 五年预期目标和可能取得的重大突破等；
 - (5) 研究队伍的组成情况。
5. 对于其他类型项目，参照面上项目的方式进行选择和填写。

简表

申请者信息	姓 名	董美超	性 别	女	出生年月	1985年02月	民 族	蒙古族
	学 位	硕士			职 称	助理研究员		
	是否在站博士后	否		电子邮件	283743007@qq.com			
	电 话	0692-6660156		个人网页				
	工 作 单 位	云南省农业科学院						
	所 在 院 系 所	热带亚热带经济作物研究所						
依托单位信息	名 称	云南省农业科学院					代码	65023108B1098
	联 系 人	黄锦		电子邮件	huangj530@sina.com			
	电 话	0871-65127744		网站地址	www.yaas.org.cn			
合作单位信息	单 位 名 称							
项目基本信息	项 目 名 称	艾伦尤力克柠檬异常落叶的生理及分子机制研究						
	资 助 类 别	地区科学基金项目				亚 类 说 明		
	附 注 说 明							
	申 请 代 码	C150101:果树生理与栽培学				C150102:果树种质资源与遗传育种学		
	基 地 类 别							
	执 行 年 限	2020.01-2023.12						
	直 接 费 用	40万元						

项目摘要

中文摘要:

云南瑞丽是我国重要的柠檬产区, 艾伦尤力克柠檬产量及品质等特性都优于传统栽培的尤力克柠檬品种, 但因其冬季严重落叶导致树体衰退及产量下降。艾伦尤力克是尤力克的芽变单株, 具有同一亲本, 同一砧木, 但一个落叶, 一个不落叶, 其落叶机制尚不明了。本项目拟通过柠檬在落叶过程中离区细胞形态解剖, 以明确离区细胞结构变化且与相邻细胞的差异; 同时测定落叶过程中离区激素含量及酶活性等生理指标动态, 以探明其生理机制差异; 进一步利用RNA-seq对两个柠檬品种在喷施激素等调控下落叶前后进行表达谱分析, 并通过Real-time PCR和原位杂交对候选基因进行验证, 结合模式植物拟南芥进行功能验证, 分离控制该过程的关键基因, 以解析艾伦尤力克柠檬冬季异常落叶的分子机制, 进一步通过喷施激素抑制落叶加以验证。这不但可将柠檬落叶机理的研究引向深入, 为探索抑制艾伦尤力克柠檬落叶的手段提供重要理论依据。

Abstract:

Ruili is one of the major lemon-producing areas in Yunnan province, China. The yield and quality of Allen Eureka lemon are superior to traditionally cultivated lemon varieties, but its winter defoliation leads to the decline of tree body and yield. Compared with Eureka lemon, they have the same parents, but Eureka lemon does not leave leaves, Allen Eureka leaves, the deciduous mechanism is still unclear. This project intends to research on the morphological anatomy of the cells in vitro from the leaves during the process of defoliation, in order to clarify the changes in cell structure and the differences from adjacent cells. At the same time, the physiological indexes such as hormone content and enzyme activity in the process of defoliation would be measured to determine the difference of physiological mechanism; Furthermore, RNA-seq would be used to analyze the expression profiles of two lemon varieties before and after defoliation by spraying hormones. The candidate genes would be validated by Real-time PCR and in situ hybridization, and the key genes controlling the process would be isolated by functional verification of model plant *Arabidopsis thaliana*. The molecular mechanism of abnormal deciduous lemon leaves in winter would be analyzed, and further verification would be carried out by spraying hormones to inhibit defoliation. All these not only can lead to the further study of the mechanism of lemon leaf loss, but also provide an important theoretical basis for exploring the means of restraining lemon leaf shedding.

关键词(用分号分开): 柑橘; 激素; 柠檬; 落叶; 生理分子机制

Keywords(用分号分开): citrus; hormone; Lemon; Deciduous; Physiological and molecular mechanisms

项目组主要成员

编号	姓名	出生年月	性别	职称	学位	单位名称	电话	证件号码	项目分工	每年工作时间(月)
1	董美超	1985.02	女	助理研究员	硕士	云南省农业科学院	0692-6660156	150404198502080028	项目负责人	10
2	高俊燕	1969.05	女	研究员	硕士	云南省农业科学院	06926660150	533121196905160027	样品的处理与采集	6
3	周东果	1969.11	女	研究员	学士	云南省农业科学院	06926660167	533102196911261220	细胞形态研究	4
4	李进学	1980.05	男	副研究员	硕士	云南省农业科学院	06926660617	532226198005162153	基因功能验证	6
5	刘红明	1986.07	男	助理研究员	硕士	云南省农业科学院	06926660150	530125198607160418	抗性生理指标测定	6
6	杜玉霞	1989.07	女	助理研究员	硕士	云南省农业科学院	06926660165	532901198907164941	激素含量酶活性测定	6
7	付小猛	1986.05	女	研究实习员	硕士	云南省农业科学院	06926660105	533001198605140946	转录组数据分析	4
8	龙春瑞	1987.08	男	助理研究员	硕士	云南省农业科学院	06926660105	530127198708265211	原位杂交	4
9	李丹萍	1991.09	女	研究实习员	硕士	云南省农业科学院	06926660105	412702199109011142	实时定量分析	4
总人数		高级		中级		初级		博士后	博士生	硕士生
9		3		4		2				



国家自然科学基金项目直接费用预算表（定额补助）

项目批准号：31960574

项目负责人：董美超

金额单位：万元

序号	科目名称	金额
1	项目直接费用合计	40.0000
2	1、设备费	2.0000
3	(1)设备购置费	2.00
4	(2)设备试制费	0.0000
5	(3)设备升级改造与租赁费	0.0000
6	2、材料费	9.0000
7	3、测试化验加工费	18.0000
8	4、燃料动力费	0.0000
9	5、差旅/会议/国际合作与交流费	4.0000
10	6、出版/文献/信息传播/知识产权事务费	2.0000
11	7、劳务费	5.00
12	8、专家咨询费	0.00
13	9、其他支出	0.00



预算说明书（定额补助）

（请按照《国家自然科学基金项目预算表编制说明》等的有关要求，对各项支出的主要用途和测算理由，以及合作研究外援资金、单价≥10万元的设备费等内容进行必要说明。）

本项目资助的直接经费 40.00 万元，预算说明如下：

1. 设备费：2.00 万元

设备购置费：用于冰箱、移液器、电转杯、比色杯等小件仪器购置。

2. 材料费：9.00 万元

主要用于支付生理指标的测定、各种试剂盒、限制性内切酶、生化试剂和易耗品等。

本项目需要 RACE 试剂盒 SMART™ RACE cDNA Amplification Kit (Clontech) 1 个，每个 1.0 万元、原位杂交 DIG DNA Labeling Kit (Roche) 试剂盒 2 个，每个 0.4 万元、实时定量试剂盒 SYBR Green Master Mix (PE Applied Biosystems, USA) 需要 7 个，每个 0.3 万元、反转录试剂盒 GoScript™ Reverse Transcription System (Promega, USA) 需要 8 个，每个 0.15 万元。上述合计需要试剂盒的费用为 5.10 万元；T-Vector、Taq 酶、尼龙膜、Maker、DNTP、高保真的 Tap 酶和其他限制性内切酶等合计需要 1.80 万元；用于生理生化指标测定的药品试剂，用于细菌培养的抗生素及用于 DNA、RNA 提取的分子生物学常规生化试剂、以及枪头、三角瓶、培养皿、离心管、一次性过滤器、试剂瓶、封口膜、液氮、移液器、洗涤用品、等耗材合计需要 2.10 万元。

3. 测试化验加工费：18.00 万元

主要用于转录组测序、克隆测序、引物合成和不同激素的测定。该项的费用为市场测序的费用为每个表达谱 1 万元，两个品种落叶前后 4 个时期，另外喷施激素和控水两种处理，共计 12 个表达谱，所以测序的总费用为 12.00 万元；基因克隆测序、载体构建引物合成、实时定量引物等合计费用 2.00 万元；乙烯、生长素、赤霉素、细胞分裂素等激素测定需要 4.00 万元。

4. 差旅/会议/国际合作与交流费：4.00 万元

申请单位项目参加人员一部分常驻保山，一部分常驻瑞丽，乘车往返一次约需 1200 元/1 人，项目执行过程中，项目成员需采样送样，研究交流，一年 1~2 次，每次 1~2 人，4 年合计 1.00 万元；参加柑橘年会及其他学术会议，与同行交流研究进展，每次 1~2 人，主要用于注册和差旅费，乘飞机往返一次约需 3000 元/1 人，4 年合计 3.00 万元。

5. 出版/文献/信息传播/知识产权事务费：2.00 万元

用于文献资料查阅购买、资料费、论文版面费等。

6. 劳务费：5.00 万元

主要用于支付科研辅助人员的科研劳务费和试验田间管理人员，有 2 名硕士，500 元/月，每年工作 10 个月，每年 1.00 万元，4 年 4.00 万元。试验田间材料工人日常施肥、打药等每年 0.25 万元，4 年 1.00 万元。

项目负责人签字：

董美超

科研部门公章：

财务部门公章：



报告正文

研究内容和研究目标按照申请书执行。



国家自然科学基金资助项目签批审核表

<p>我接受国家自然科学基金的资助，将按照申请书、项目批准意见和计划书负责实施本项目（批准号：31960574），严格遵守国家自然科学基金委员会关于资助项目管理、财务等各项规定，切实保证研究工作时间，认真开展研究工作，按时报送有关材料，及时报告重大情况变动，对资助项目发表的论著和取得的研究成果按规定进行标注。</p> <p>项目负责人（签章）：<u>董美超</u> 2019年9月17日</p>	<p>我单位同意承担上述国家自然科学基金项目，将保证项目负责人及其研究队伍的稳定和研究项目实施所需的条件，严格遵守国家自然科学基金委员会有关资助项目管理、财务等各项规定，并督促实施。</p> <p style="text-align: center;">  依托单位（公章） 年 月 日 </p>														
本栏目由基金委填写	<p>科学处审查意见：</p> <p style="text-align: center; color: red; font-size: 1.2em;">同意按计划书内容执行</p> <p>建议年度拨款计划（本栏目为自动生成，单位：万元）：</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>年度</th> <th>总额</th> <th>第一年</th> <th>第二年</th> <th>第三年</th> <th>第四年</th> <th>第五年</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>金额</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p>负责人（签章）：<u>于振良</u> 2019年11月4日</p>	年度	总额	第一年	第二年	第三年	第四年	第五年	金额						
	年度	总额	第一年	第二年	第三年	第四年	第五年								
金额															
<p>科学部审查意见：</p> <p style="text-align: center; color: blue; font-size: 1.2em;">同意科学处审查意见</p> <p>负责人（签章）：<u>谷瑞升</u> 2019年11月7日</p>															
本栏目主要用于重大项目等	<p>相关局室审核意见：</p> <p style="text-align: right;">负责人（签章）： 年 月 日</p>														
	<p>委领导审批意见：</p> <p style="text-align: right;">委领导（签章）： 年 月 日</p>														