

茶树生长素受体基因 *CsTIR1* 的克隆与表达分析

曹红利^{1,2}, 岳川^{1,2}, 周艳华^{1,2}, 王璐¹, 郝心愿¹, 曾建明¹, 杨亚军^{1*}, 王新超^{1*}

1. 中国农业科学院茶叶研究所/国家茶树改良中心, 农业部茶树生物学与资源利用重点实验室, 浙江 杭州 310008;

2. 中国农业科学院研究生院, 北京 100081

摘要: 吲哚-3-乙酸(又称 IAA 或生长素), 在植物生长发育中具有重要的调控作用, 其作用主要通过信号转导途径来完成。生长素受体是其信号转导的关键元件之一。本研究通过 RACE 克隆, 获得了茶树中生长素受体 *CsTIR1* 基因的 cDNA 全长序列 (NCBI 登录号: JX050147)。*CsTIR1* 序列全长 2 315 bp, 含 1 746 bp 的完整开放阅读框, 编码 581 个氨基酸, 预测分子量 65.18 kD, 理论等电点 (pI) 5.64。茶树 *CsTIR1* 与烟草 *TIR1* 的相似性最高达 82%, 亲缘关系最近。*CsTIR1* 含有 1 个 F-box 结构域和 6 个 LRR 结构域, 三级结构形如“蘑菇状”。*CsTIR1* 在茶树的根、茎、叶和花中具有组织表达特异性; 其表达受 IAA 诱导, 3 种不同浓度的 IAA 均能诱导 *CsTIR1* 上调表达, 且在 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下表达量最大; ABA、GA3、MeJA 和 BR 等激素也能够显著上调其表达; *CsTIR1* 在越冬休眠芽中的表达量低, 在活跃期中上调表达。

关键词: 茶树; 植物激素; 生长素; 生长素受体基因 *CsTIR1*; 芽休眠

中图分类号: S571.1; Q52

文献标识码: A

文章编号: 1000-369X(2015)01-045-10

DOI:10.13305/j.cnki.jts.2015.01.009

Cloning and Expression Analysis of Auxin Receptor Gene *CsTIR1* in Tea Plant (*Camellia sinensis*)

CAO Hongli^{1,2}, YUE Chuan^{1,2}, ZHOU Yanhua^{1,2}, WANG Lu¹, HAO Xinyuan¹,
ZENG Jianming¹, YANG Yajun^{1*}, WANG Xinchao^{1*}

1. Tea Research Institute of the Chinese Academy of Agricultural Sciences, National Center for Tea Improvement,

Key Laboratory of Tea Biology and Resources Utilization, Ministry of Agriculture, Hangzhou 310008, China;

2. Graduate School of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China

Abstract: Indole-3-acetic acid (IAA or auxin), functioning via its signal transduction, plays a pivotal role in plant growth and development regulation. Transport inhibitor response 1 (TIR1) protein, an auxin receptor, is one of the most critical components in IAA signaling pathway. The full-length cDNA sequence of *CsTIR1* gene was obtained by using RACE technique, and submitted to GenBank with accession number JX050147. The *CsTIR1* cDNA length was 2 315 bp, and contained a 1 746 bp open reading frame (ORF), encoding 581 amino acid residues. The molecular weight and theoretic isoelectric point of *CsTIR1* protein are 65.18 kD and 5.64, respectively. In addition, *CsTIR1* protein had the highest sequence similarity about 82% and the closest genetic relationship to *Nicotiana tabacum*. The *CsTIR1* was predicted to contain one F-box and six leucine-rich-repeat (LRR) domains, which forming the ‘stem’ and ‘cap’, respectively. And its tertiary structure is shaped as a mushroom. Semi-quantitative RT-PCR results suggested that *CsTIR1* expression showed a tissue-specificity among root, stems, leaves and flowers. The further

收稿日期: 2014-09-09

修订日期: 2014-10-15

基金项目: 国家自然科学基金 (31370690)、国家茶叶产业技术体系 (CARS-23) 资助

作者简介: 曹红利, 女, 博士研究生, 主要从事茶树抗寒育种和分子生物学研究。*通讯作者

investigation indicated that the transcript of *CsTIR1* was regulated by phytohormones. In a time-course assay, it was found that *CsTIR1* was significantly up-regulated when tea plant treated with three different IAA concentration and various plant hormones (ABA, GA₃, MeJA and BR), and showed the highest expression level under 50 μmol·L⁻¹ IAA concentration. Finally, the expression of *CsTIR1* was detected in bud dormancy-active cycle during winter and *CsTIR1* showed a low transcription level in dormant buds but expressed abundantly in active buds.

Keywords: tea plant, phytohormone, auxin, auxin receptor gene *CsTIR1*, bud-dormancy

吲哚-3-乙酸（又称 IAA 或生长素）是一种重要的植物激素，在植物生长发育和环境胁迫响应等方面有重要作用^[1-2]。生长素受体是研究生长素信号传导途径的一个关键环节，但它的分离鉴定却一直是个难题。直到 2005 年，在《Nature》杂志上连续发表 2 篇论文，确定运输抑制剂响应蛋白 1（Transport inhibitor response 1, TIR1）为植物生长素受体^[3-4]。这为生长素信号调节的认识和探索奠定了基础，同时也在科学界引起高度关注。TIR1 是一个含有 F-box 的蛋白质，而 F-box 是一个蛋白质能与另一个蛋白质结合的标志性结构域。当细胞核中的 IAA 与 SCF^{TIR1} 复合体（泛素连接酶 3）中的 TIR1 结合后，可以促进 SCF^{TIR1} 复合体与 Aux/IAA 蛋白识别，形成 SCF^{TIR1}-Aux/IAA 复合体，启动 Aux/IAA 蛋白的泛素化过程，最终被 26 S 蛋白酶体降解。在 TIR1 没有与 IAA 结合的条件下，Aux/IAA 与 ARF（Auxin response factor）结合，抑制了生长素响应因子 ARF 的转录活性，不产生 IAA 作用，Aux/IAA 蛋白降解，使 ARF 能够调控下游基因的转录，产生 IAA 效应^[5-7]。因此，TIR1 是生长素信号转导中重要的关键元件，研究 TIR1 对研究 IAA 的生理调控作用具有重要的作用。目前，番茄^[8]、烟草^[9]和黄瓜^[10]等多种植物中已分离出了 TIR1 基因，并对其表达模式进行了全面的分析。

IAA 对茶树生长发育也具有重要作用，它在茶树组织培养、扦插苗生根等生理活动中的作用已进行了广泛的研究^[11]。许多研究显示 IAA 调控植物的休眠^[12]。笔者前期研究显示，IAA 相关基因在茶树越冬芽休眠过程中表达

差异显著，并克隆报道了部分基因^[13-16]，前人也报道了茶树中 IAA 含量变化与茶树休眠密切相关^[17-21]，表明它在茶树休眠过程中发挥功能，但其内在的分子机制还不明确。本研究克隆了茶树生长素受体基因 *CsTIR1* 的全长 cDNA 序列，分析了它的生物信息学特征，并测定了 *CsTIR1* 对多种激素的响应及在茶树越冬期休眠中的表达模式等，为研究生长素在茶树中的作用机制提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料及试剂

试验材料为国家级茶树良种龙井 43。SMART RACE cDNA synthesis kit 和 Advantage[®] Polymerase Mix 购于 Clontech 公司（Mountain View, CA, USA）；SYBR Premix Ex Taq[™] 试剂盒、Prime Script TM^{RT} reagent 试剂盒、大肠杆菌 DH5α 感受态细胞和 rTaq 酶为 TaKaRa 公司产品（大连）；克隆载体 PCR2.1[®]vector 购自 Invitrogen 公司（Carlsbad, USA）；植物总 RNA 提取试剂盒购自天根生物有限公司（北京）；琼脂糖凝胶回收试剂盒购自 Axygen 公司（California, USA）。植物激素 ABA、IAA、GA₃、MeJA、BR 购自 Sigma 公司（上海），其他试剂均为国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 茶树总 RNA 提取及 cDNA 合成

茶树总 RNA 参照天根公司提供的多糖多酚植物总 RNA 提取试剂盒说明进行，用 Nanodrop 2000 测定 RNA 浓度后，调整质量浓度至 500 ng·μL⁻¹，取一定量的总 RNA 进行电

泳检测完整性, RNA 于 -80°C 保存。RACE 扩增的 cDNA 合成参照试剂盒说明进行; 按照 Takara 公司提供的 PrimeScript RT reagent Kit 试剂盒说明以 $1\ \mu\text{g}$ 总 RNA 合成荧光定量 PCR (qRT-PCR) 的 cDNA, 稀释 10 倍后用于 qRT-PCR 反应。

1.2.2 *CsTIR1* 基因全长 cDNA 克隆

在前期转录组测序^[22] (NCBI 接受号: SRA061043) 的基础上筛选出与 *TIR1* 高度同源的 EST 序列, 采用 RACE 技术扩增 3' 和 5' 末端序列, RACE 特异引物见表 1。PCR 扩增程序参考试剂盒说明略有改动: 94°C 、30 s, 65°C 、30 s, 72°C 、2.5 min, 共 30 个循环。PCR 产物经 1.0% 的凝胶电泳检测, 切胶回收, 连接转化, 蓝白斑筛选, 菌落 PCR 验证阳性克隆后送上海华津生物技术有限公司测序。测序结果拼接后得到完整开放阅读框 (ORF) 的全长序列, 在 ORF 两端设计引物 (表 1) 进行 PCR 扩增并测序验证, 从而得到基因的 cDNA 全长序列。

表 1 引物列表
Table 1 Primer sequences

引物名称 Primer name	序列 (5'-3') Sequence (5'-3')
TIR1-3'	AGATGTCTCCGTCTCAACCGTGC
TIR1-5'	ACCCTTCTCTACACCACCGCTC
TIR-RT-F	ATAGAGCGGTGGTGTAGGAG
TIR-RT-R	AAACAAATGAAAATGCGGAG
TIR-qRT-F	CTCAGAACCCTCCAAACCTGACTC
TIR-qRT-R	TGAGAAGACCAGATAGCGATAGGC
18S-F	TCTCAACCATAAACGATGCCGACCAG
18S-R	TTCAGCCTTGCGACCATACTCCC

1.2.3 *CsTIR1* 基因的生物信息学分析

实验中所用基因的氨基酸序列均从 NCBI 网站上下载, 并利用该数据库中的 Blast 工具进行序列同源性比对分析, 生物信息学分析所用软件工具列于表 2。

1.2.4 *CsTIR1* 的表达分析

以茶树 18S 基因作为内参基因, 分析茶树 *CsTIR1* 的表达。荧光定量反应体系为: SYBR

Premix Ex Taq $10\ \mu\text{L}$, 上、下游引物 ($10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 各 $0.8\ \mu\text{L}$, ROX Dye II $0.4\ \mu\text{L}$, cDNA $4\ \mu\text{L}$, 加水至终体积 $20\ \mu\text{L}$ 。反应在 ABI PRISM 7500 实时定量 PCR 仪上进行: 95°C 变性 30 s, 94°C 变性 5 s, 60°C 退火延伸 34 s, 40 个循环。反应结束后分析荧光值变化曲线和融解曲线。每个反应重复 3 次, 采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 算法分析结果。半定量 PCR 用于分析 *CsTIR1* 在根、茎、叶和花中的表达, PCR 程序为 94°C 、20 s, 55°C 、20 s, 72°C 、30 s, 28 个循环。

表 2 生物信息学分析工具
Table 2 Tools of bioinformatic analysis

软件 Tools	作用 Functions
DNASar	序列拼接和开放阅读查询
ClustalW MEGA6.0	序列对齐、比对及进化树构建
ProtParam	蛋白质相对分子质量和理论等电点
SingalP	信号肽预测
SOPMA	蛋白质二级结构分析
Tmap v6.0.1	预测蛋白质的跨膜结构域
NetNES1.1	蛋白质的亚细胞定位
SWISS MODEL	蛋白质三级结构分析
PyMol	

1.2.5 茶树样品的处理及采集

参考 Cui 等^[10] 的激素浓度梯度, 准确称取适量的脱落酸 (ABA)、赤霉素 (GA_3)、茉莉酸甲酯 (MeJA)、油菜素内酯 (BR) 和生长素 (IAA), 用甲醇溶解定容作为母液, 然后用纯净水配制 $10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 ABA、 GA_3 、MeJA、BR 以及 5、10、 $50\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 IAA 溶液。加入相同体积的甲醇溶液到纯净水中作为对照处理。5 月份, 从试验田中剪取无病虫害及长势相近的茶树枝条, 离体培养在配制的不同激素溶液中, 期间在不同时间点取枝条顶端第 2~3 叶作为样品, -80°C 保存备用。

从 2012 年 11 月至 2013 年 3 月, 依据茶树生长休眠的状态及温度变化, 在试验茶园中采集茶芽, 采下的茶芽迅速用液氮冷冻并于 -80°C 下保存。

2 结果与分析

2.1 CsTIR1 基因全长 cDNA 的克隆

从转录组数据中筛选出茶树中可能的 TIR1 基因序列, 用 DNASTAR 软件包中的 Seqman 工具拼接后, 得到一条全长 2 007 bp 的序列, NCBI 中进行 BLASTx 比对显示该序列与提交的 TIR1 基因相似性较高, 但缺少 3' 和 5' 端序列。因此, 设计 RACE 特异引物, 分别扩增出长 1 556 bp 和 269 bp 的 3' 和 5' 片段 (图 1), 测序结果与原来的序列拼接后, 具有完整的 ORF, 在 ORF 两端设计引物扩增得到约 2 022 bp 片段 (图 1), 对该片段进行

测序验证后, 命名为 *CsTIR1*, 提交 Genbank, 登录号为: JX050147。

2.2 CsTIR1 基因的生物信息学特征分析

茶树 *CsTIR1* 基因 cDNA 全长 2 315 bp, 其中 ORF 长 1 746 bp, 编码 581 个氨基酸。蛋白质分子质量为 65.18 kD, 理论等电点 (pI) 5.64, 为酸性氨基酸。SignalP 预测显示该基因编码序列无信号肽输入位点; 亚细胞定位预测分析显示, *CsTIR1* 定位在膜外, 主要在细胞质中起作用, 这与其他的报道一致; 进一步分析显示, *CsTIR1* 具有多个磷酸化位点, 磷酸化作用对其功能的正常发挥具有重要调控作用。

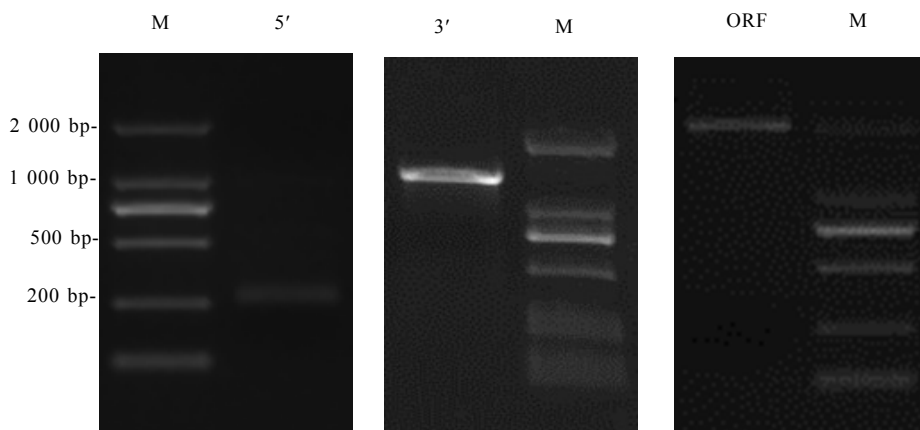


图 1 *CsTIR1* 的 5' 与 3' RACE 和 RT-PCR (ORF) 电泳结果

Fig. 1 Electrophoresis results of 5' and 3' fragment and RT-PCR (ORF) fragment of *CsTIR1*

CsTIR1 功能域预测表明其具有 1 个 F-box 结构域和 6 个亮氨酸重复序列 (LRR) 结构域 (图 2)。二级结构分析显示, *CsTIR1* 主要由 α -螺旋和 β -折叠构成。三级结构模拟显示 (图 3), *CsTIR1* 是由 F-box 和 LRR 结构组成的形如蘑菇状的三级结构, N-端的 F-box 结构域构成“蘑菇”的茎, 多个 LRR 结合在一起组成“蘑菇”的伞。伞状结构能够与 IAA 及其类似物相结合形成多聚物, 促进与 AUX/IAA 蛋白识别, 启动 Aux/IAA 蛋白的泛素化进程。这与拟南芥的 TIR1 结构相

似^[6]。

利用 NCBI 中的 BLASTx 工具, 对获得的序列进行相似性分析, 结果显示, *CsTIR1* 与其他物种中的 TIR1 具有较高的相似性, 相似性均在 70% 以上, 其中与烟草的相似性最高, 达 82%。用不同物种的序列进行比对后, 用 NG 方法构建系统发育树, 结果显示 (图 4), *CsTIR1* 与烟草、番茄和马铃薯的 TIR1 聚为一类, 且与烟草的关系最近; 同时还可以看出, 单子叶植物水稻 TIR1 与双子叶植物的关系较远。

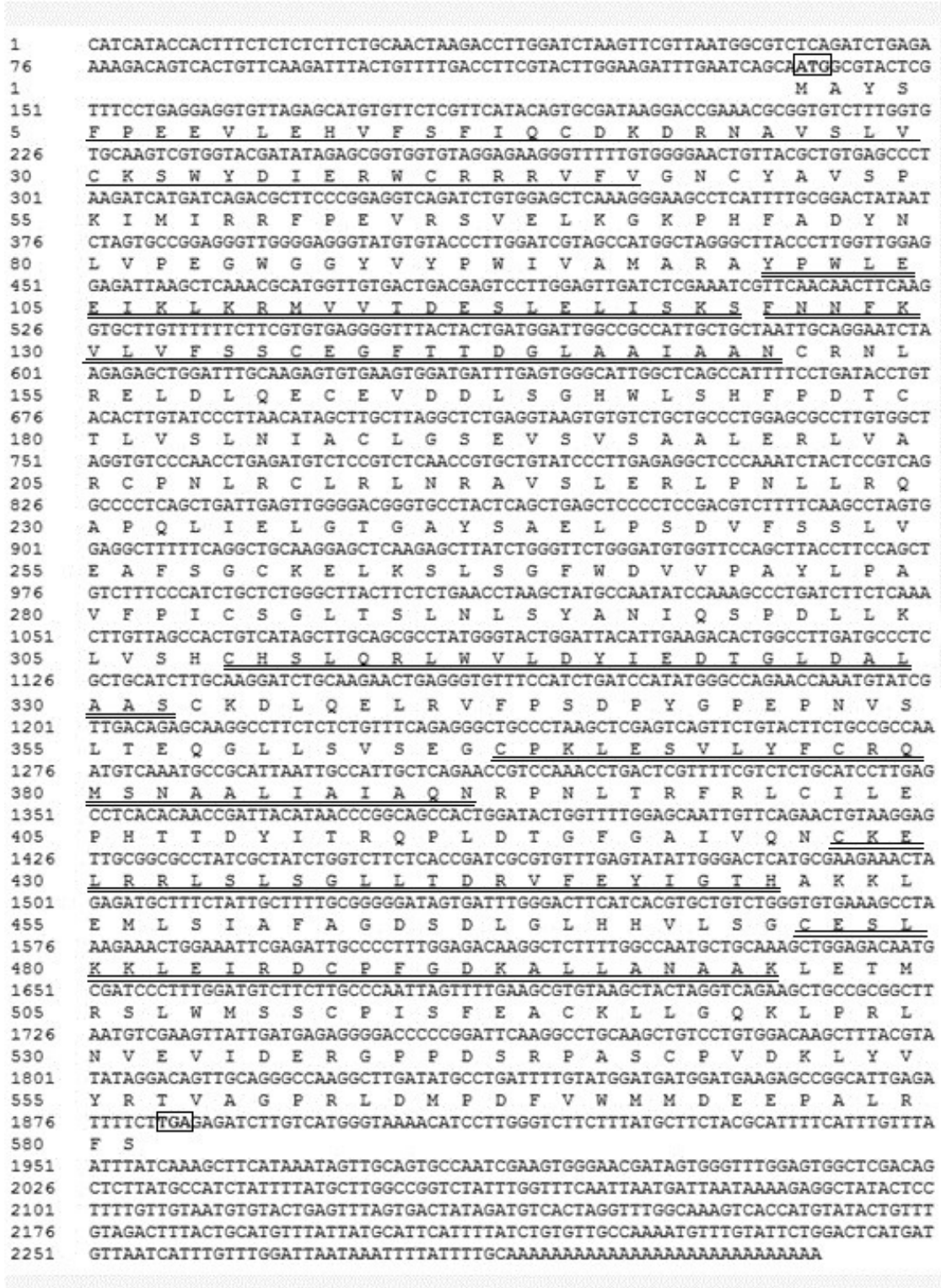


图 2 茶树 *CsTIR1* 全长 cDNA 序列及其编码的氨基酸序列

Fig. 2 The full-length cDNA and encoded amino acid sequence of *CsTIR1* in tea plant

注: 起始密码子和终止密码子用方框标示, 单下划线表示 F-box 结构域, 双划线表示 LRR 结构域。

Note: The start codon and termination codon were boxed. The F-box and LRR motifs were highlighted with single and double underline, respectively.

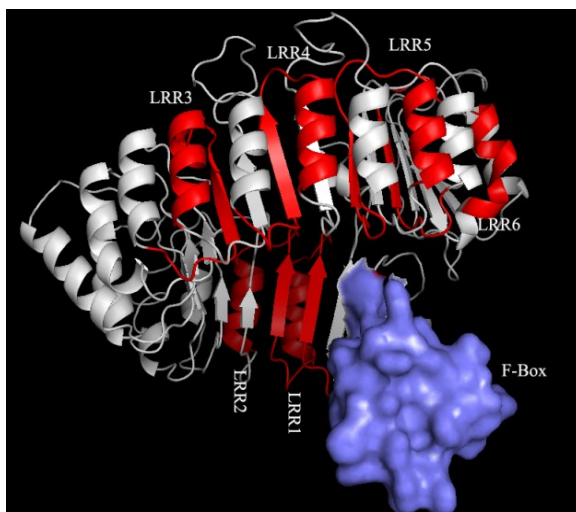


图 3 CsTIR1 的三级结构预测

Fig. 3 Tertiary structure prediction of CsTIR1

注：蓝色表示 F-box 结构，红色表示 LRR。

Note: The F-box was shown as a blue surface model, and LRRs were colored red.

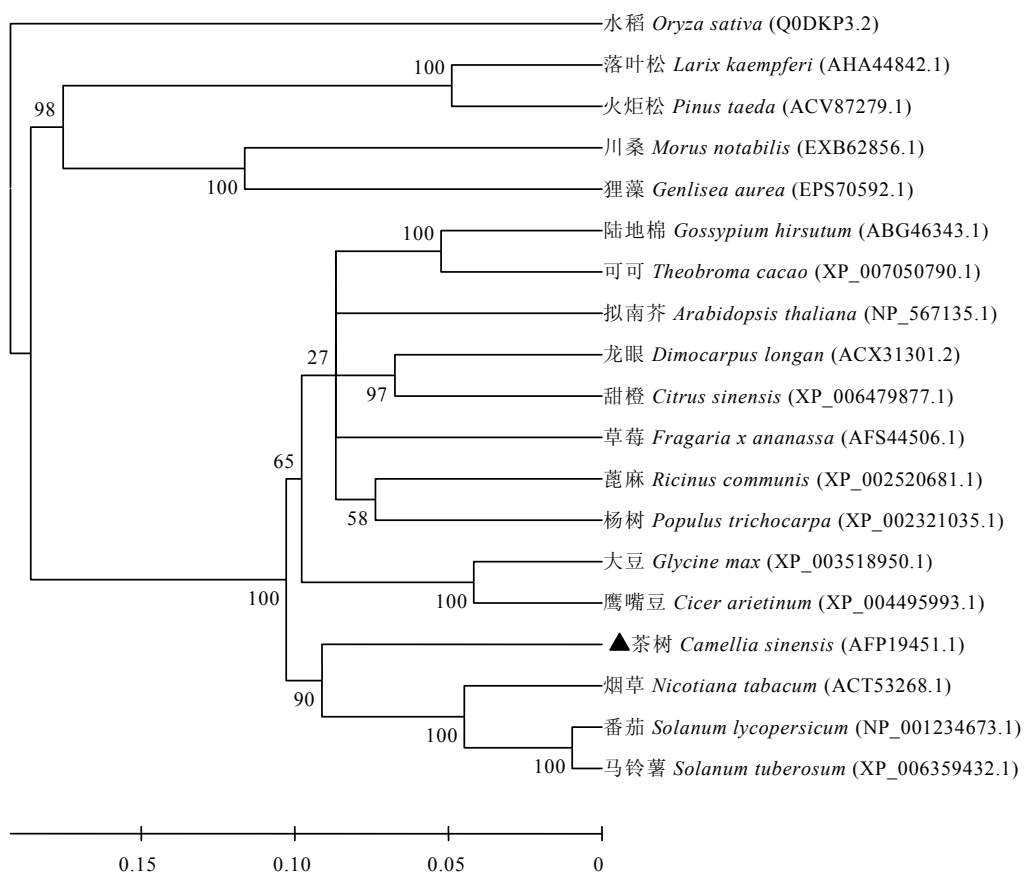


图 4 CsTIR1 的进化树分析

Fig. 4 Phylogenetic analysis of CsTIR1

2.3 *CsTIR1* 基因的表达分析

2.3.1 *CsTIR1* 的组织表达特异性

用半定量的方法, 分析了 *CsTIR1* 基因在茶树根、茎、叶和花中的表达 (图 5), 结果显示, *CsTIR1* 在叶片中的表达量最高, 在茎中次之, 在根和花中的表达均比较低。表明 IAA 主要在叶片和茎等器官中发挥功能作用。

2.3.2 *CsTIR1* 在植物激素处理后的表达

不同浓度 IAA 处理后, *CsTIR1* 的表达均能被诱导 (图 6), 但 $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ IAA 处理 1 h 时, *CsTIR1* 的表达被迅速抑制, 而随着处理

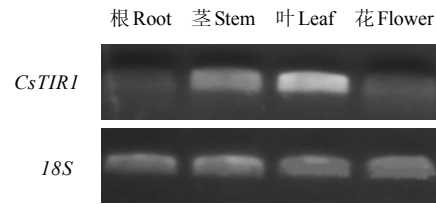


图 5 *CsTIR1* 在茶树不同组织间的表达

Fig. 5 Expression of *CsTIR1* in various tissues

时间的延长, 表达上调。同样, 另外两个浓度处理后, 随着处理时间的延长表达量均呈逐渐升高的趋势。

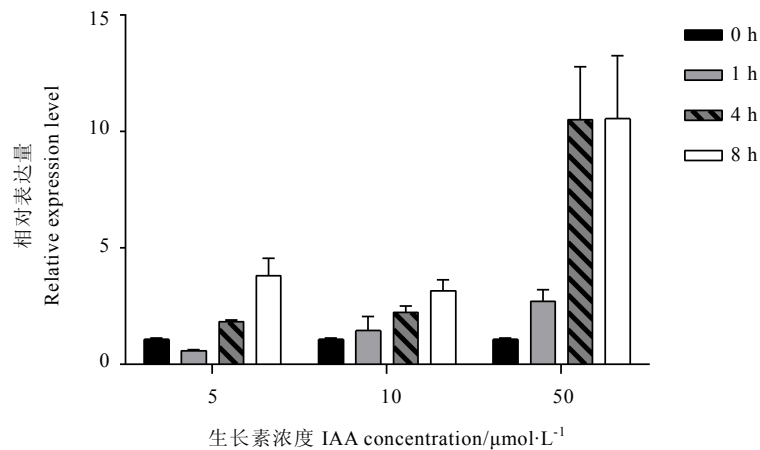


图 6 *CsTIR1* 在不同浓度 IAA 处理下的表达模式

Fig. 6 Expression pattern of *CsTIR1* under various IAA concentration treatments

植物激素信号之间具有相互调控的作用。如图 7 显示, 植物激素 ABA、 GA_3 、MeJA 和 BR 处理后, 在 8 h 的短时刺激过程中, *CsTIR1* 基因均被诱导表达。 *CsTIR1* 在 ABA、 GA_3 和 MeJA 处理 8 h 后的相对表达量达到最大, 分别为 8.78、8.86 和 13.48; 而 BR 处理后, *CsTIR1* 的表达量在 1 h 就达到最大值 4.95, 然后随着处理时间的延长逐渐降低, 处理 8 h 的相对表达量为 1.77, 但仍比处理前要高。

2.3.3 *CsTIR1* 在茶树越冬芽休眠中的表达

由图 8 可知, *CsTIR1* 的表达与茶树越冬芽休眠密切相关。2012 年 11 月初, 茶芽开始进入休眠, 以此时的表达为对照, 随着休眠的

深入, 在深休眠期 (次年 1 月), 其表达量显著降低, 为 0.72。随着休眠的解除, 2 月份以后, *CsTIR1* 的表达量逐渐上调, 3 月上旬及 3 月中旬的表达量显著高于对照, 并在茶芽萌发期 (3 月中旬) 达到最大值 3.35。

3 讨论

3.1 茶树 *CsTIR1* 的克隆

在植物激素研究领域, 激素受体的分离鉴定一直是研究的热点。阐明植物激素与受体作用的机制是了解植物激素作用机理的关键。新世纪初, 植物中多种重要激素受体得以解析,

如 GA、ABA 和 IAA 等，对进一步研究植物激素的调控机制起到了巨大的推动作用。从 2005 年首次报道了 IAA 受体至今，在多种植

物中已先后报道了 TIR1。在茶树中，前人研究了植物激素与茶树生长发育的关系，但其内在的分子作用机理仍有待深入认识。

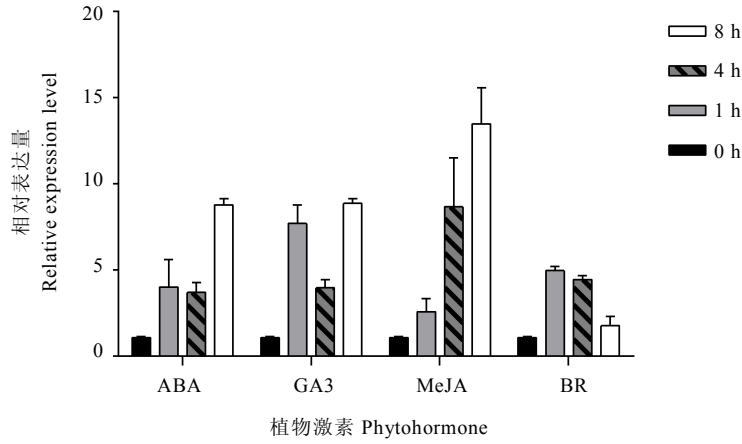


图 7 *CsTIR1* 在不同植物激素处理下的表达模式

Fig. 7 Expression profile of *CsTIR1* under diverse phytohormone treatments

注：各激素处理浓度均为 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

Note: The concentration of phytohormone treatment is $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

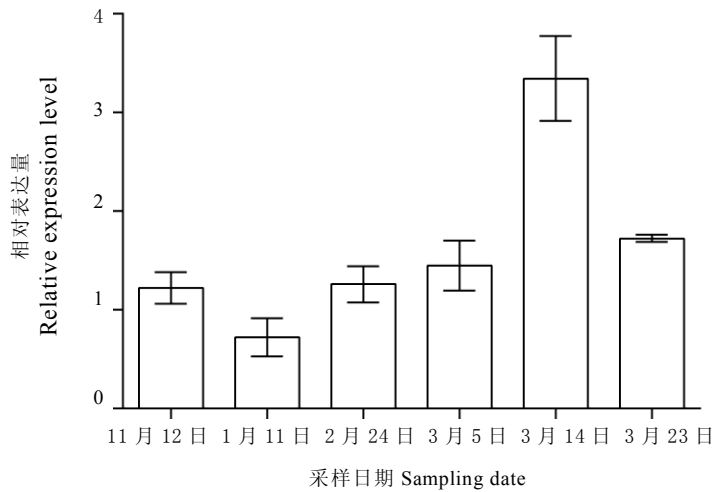


图 8 *CsTIR1* 在茶芽越冬休眠过程中的表达

Fig. 8 Expression of *CsTIR1* in dormancy-active cycle of tea bud

笔者前期报道了 GA 受体基因 *GID1a*^[23]，但其他植物激素的受体，特别是那些与茶树生长等关系密切的植物激素，它们的信号转导元件或代谢关键酶中的基因仍未有相关报道。本研究克隆了茶树中 *CsTIR1* 基因的 cDNA 序

列，该基因的编码蛋白与其他报道的 TIR1 大小相近。从结构域、序列特征及三级结构预测等方面，对其进行生物信息学分析，表明 *CsTIR1* 具有 TIR1 的基本特征，是茶树中 IAA 的受体。*CsTIR1* 具有组织表达特异性，在叶

片和茎中的表达量要显著高于在根和花中的表达。

3.2 *CsTIR1* 对植物激素的响应

TIR1 基因的表达依赖于 IAA。*CsTIR1* 的表达随 IAA 浓度的增大而增加, 且浓度在 5~10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间对 *CsTIR1* 的影响是相当的, 而提高浓度至 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 对其表达的影响显著增大。因此, 茶树对 IAA 浓度的敏感性可能在 5~10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间没有显著差异, IAA 浓度为 10~50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 对茶树的影响显著增强。植物对激素的响应受阈值影响, 在一定阈值内的响应效果是相似的。南瓜叶片中 IAA 浓度为 5、10、50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 对 *TIR1* 的影响均是相当的, 3 种浓度间 *TIR1* 的表达变化不显著^[10]。同时, IAA 对 *TIR1* 的诱导, 还受 *TIR1* 与 IAA 产生亲和力时 IAA 浓度的高低限制, 有可能浓度达到 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时 *TIR1* 对 IAA 才具有亲和力^[24]。但不同物种之间还存在较大差异。

植物激素作用是相互偶联的, IAA 的作用受其他植物激素, 如 ABA、 GA_3 等的调控。笔者分析了 *CsTIR1* 在其他 4 种激素处理下的表达, 结果表明 4 种激素均对 *CsTIR1* 的表达起诱导作用, 并且在短时 (1 h) 内就能够显著的上调该基因的表达, 显示出植物激素具有快速作用的特点。植物激素的作用是一个复杂的调控网络, 除了单一激素作用以外, 还能够通过信号中的其他元件调控另外的植物激素作用, 从而形成多种激素作用的结果^[25]。如 IAA 能够调控 GA 的作用从而影响拟南芥根的发育^[26]。*CsTIR1* 能够响应其他激素处理, 充分反映了激素间的相互调控作用。Cui 等^[10] 研究显示南瓜中 *TIR1* 基因也受其他激素的诱导, 表达模式与笔者的研究结果相近。

3.3 *CsTIR1* 与茶树休眠的关系

植物激素在植物休眠生理中具有重要的作用, 越来越多的研究显示, IAA 在植物休眠中起到关键的调控作用^[27-28]。本课题组对茶树

越冬芽休眠的调控机制做了深入研究, 发现 IAA 相关基因在茶树芽休眠过程中的表达差异显著。本研究中发现 *CsTIR1* 基因的表达也与休眠密切相关。在深休眠阶段的表达量较低, 而在芽生长活跃期的表达量较高。由前面的激素处理结果推测, 在深休眠期, 芽中 IAA 含量低, 在活跃期 IAA 含量高。黄亚辉^[17-18] 等的研究结果也证实了 IAA 在深休眠期含量较低, 萌发阶段含量升高。IAA 能够促进植物的生长, 在深休眠期, *CsTIR1* 的表达量低, 维持芽的深休眠状态。在此阶段, 外界温度较低, 深休眠状态的维持是茶树对茶芽的一种自我保护, 避免芽的生长遭受低温的胁迫。随着温度的回升, 茶芽开始解休眠而进入生长阶段, IAA 促进其生长, 此时 *CsTIR1* 表达量升高。因此推测, *CsTIR1* 可能在茶树休眠过程中有重要作用。

参考文献

- [1] Si-Ammour A, Windels D, Arn-Boulidoires E, *et al.* miR393 and secondary siRNAs regulate expression of the *TIR1/AFB2* auxin receptor clade and auxin-related development of Arabidopsis leaves [J]. *Plant Physiol*, 2011, 157(2): 683-691.
- [2] Woodward A W, Bartel B. Auxin: regulation, action, and interaction [J]. *Ann Bot*, 2005, 95(5):707-735.
- [3] Dharmasiri N, Dharmasiri S, Estelle M. The F-box protein *TIR1* is an auxin receptor [J]. *Nature*, 2005, 435(7041): 441-445.
- [4] Kepinski S, Leyser O. The Arabidopsis F-box protein *TIR1* is an auxin receptor [J]. *Nature*, 2005, 435(7041): 446-451.
- [5] Woodward A W, Bartel B. A receptor for auxin [J]. *Plant Cell*, 2005, 17(9): 2425-2429.
- [6] Tan X, Calderon-Villalobos L I, Sharon M, *et al.* Mechanism of auxin perception by the *TIR1* ubiquitin ligase [J]. *Nature*, 2007, 446(7136): 640-645.
- [7] Bishopp A, Mahonen A P, Helariutta Y. Signs of change: hormone receptors that regulate plant development [J]. *Development*, 2006, 133(10): 1857-1869.
- [8] Ren Z, Li Z, Miao Q, *et al.* The auxin receptor homologue in *Solanum lycopersicum* stimulates tomato fruit set and leaf

- morphogenesis [J]. *J Exp Bot*, 2011, 62(8): 2815-2826.
- [9] Tian Y, Zhang C, Yang H, *et al*. Molecular cloning and characterization of a TRANSPORT INHIBITOR RESPONSE 1 (TIR1) from *Nicotiana tabacum* [J]. *Russ J of Plant Physiol*, 2011, 58(1): 149-156.
- [10] Cui L, Zhang T, Li J. Cloning and expression analysis of Cs-TIR1/AFB2: the fruit development-related genes of cucumber (*Cucumis sativus* L.) [J]. *Acta Physiol Plant*, 2013, 36(1): 139-149.
- [11] 岳川, 曾建明, 章志芳, 等. 茶树中植物激素研究进展[J]. 茶叶科学, 2012, 32(5): 382-392.
- [12] Meier A R, Saunders M R, Michler C H. Epicormic buds in trees: a review of bud establishment, development and dormancy release [J]. *Tree Physiol*, 2012, 32(5): 565-584.
- [13] 王新超. 茶树越冬芽休眠与萌发相关基因的分离与表达分析[D]. 北京: 中国农业科学院, 2011: 25-38.
- [14] 王新超, 马春雷, 杨亚军, 等. 生长素相关基因在茶树腋芽冬季休眠不同生长阶段的表达分析[J]. 茶叶科学, 2012, 32(6): 509-516.
- [15] 王新超, 马春雷, 杨亚军, 等. 茶树生长素抑制蛋白基因 CsARP1 的克隆与表达分析[J]. 核农学报, 2011, 25(5): 910-921.
- [16] 郝心愿, 曹红利, 杨亚军, 等. 茶树生长素响应因子基因 CsARF1 的克隆与表达分析[J]. 作物学报, 2013, 39(3): 389-397.
- [17] 黄亚辉, 粟本文, 曾贞, 等. 茶树春梢萌动生育期内源激素变化的研究[J]. 茶叶通讯, 2002, 29(2): 24-27.
- [18] 黄亚辉, 粟本文, 郑红发, 等. 茶树春梢萌动期间内源激素含量的变化 (简报) [J]. 植物生理学通讯, 2001, 37(4): 306-307.
- [19] 潘根生. 茶树生育与内源生长素和脱落酸的关系[J]. 茶叶科学, 1991, 11(1): 25-28.
- [20] 潘根生, 钱利生, 沈生荣, 等. 茶树新梢生育的内源激素水平及其调控机理 (第二报): 茶树休眠与内源激素的关系[J]. 茶叶, 2000, 26(4): 200-204.
- [21] 吴彩, 方兴汉. 茶树解除休眠前后体内激素等物质变化及锌的积极影响[J]. 作物学报, 1993, 19(2): 179-184.
- [22] Wang X C, Zhao Q Y, Ma C L, *et al*. Global transcriptome profiles of *Camellia sinensis* during cold acclimation [J]. *BMC Genomics*, 2013, 14: 415.
- [23] 岳川, 曾建明, 曹红利, 等. 茶树赤霉素受体基因 CsGID1a 的克隆与表达分析[J]. 作物学报, 2013, 39(4): 599-608.
- [24] Badescu G O, Napier R M. Receptors for auxin: will it all end in TIRs? [J]. *Trends Plant Sci*, 2006, 11(5): 217-223.
- [25] Shan X, Yan J, Xie D. Comparison of phytohormone signaling mechanisms [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2012, 15(1): 84-91.
- [26] Fu X, Harberd N P. Auxin promotes Arabidopsis root growth by modulating gibberellin response [J]. *Nature*, 2003, 421(6924): 740-743.
- [27] Horvath D P, Anderson J V, Chao W S, *et al*. Knowing when to grow: signals regulating bud dormancy [J]. *Trends Plant Sci*, 2003, 8(11): 534-540.
- [28] Tanino K K. Hormones and Endodormancy Induction in Woody Plants [J]. *J Crop Improve*, 2004, 10(1/2): 157-199.