

基因芯片研究植物逆境基因表达新进展

林海建, 张志明, 沈亚欧, 高世斌, 潘光堂

四川农业大学玉米研究所, 教育部作物基因资源与遗传改良重点实验室, 雅安 625014

摘要: 逆境胁迫影响植物的正常生长, 导致作物减产, 甚至绝收。提高作物的抗逆性一直是作物遗传育种学家追求的目标, 大量研究也正试图揭示这一复杂的生物学机制。传统的从生理生化水平到单一基因的研究都难以揭示植物复杂的抗逆机制, 而基因芯片(Gene chip)的应用使得这一目标成为了可能, 基因芯片从整个转录水平入手, 能够揭示大量基因的表达和调控情况, 同时结合蛋白质组学和代谢组学的研究方法, 将基因定位于代谢途径的某个位置, 寻找逆境胁迫响应的关键基因, 完善植物逆境胁迫响应的分子网络, 为今后利用生物技术手段提高作物抗逆境胁迫能力提供依据。文章主要对近年来基因芯片在植物逆境胁迫基因表达研究中的进展进行了综述。

关键词: 逆境胁迫; 基因芯片; 胁迫响应; 表达调控

Advances of microarray analysis on plant gene expression under environmental stresses

LIN Hai-Jian, ZHANG Zhi-Ming, SHEN Ya-Ou, GAO Shi-Bin, PAN Guang-Tang

Institute of M¹ize Research, Sichuan Agricultural University, Key Laboratory of Crop Genetic Resources and Improvement, Ministry of Education, Ya'an 625014, China

Abstract: Different stressed conditions impair plant growth and further, cause great loss of crop yield and even lead to lose production completely. Increasing resistance/tolerance of crops under stressed conditions is a major goal of numerous plant breeders, and many elegant works are focusing on this area to uncover these complicated mechanisms underlying it. However, the traditional strategies including physiological and biochemical methods, as well as studies on a few genes, can not well understand the overall biological mechanism. Microarray analysis opens a door to uncover these cryptic mechanisms, and has the ability of detecting gene transcription and regulation at genomic level in different plant tissues. And works in association with related methods of proteomics

收稿日期: 2009-04-12; **修回日期:** 2009-05-17

基金项目: 国家高技术研究发展计划项目(863计划)(编号: 2007AA10Z172), 国家自然科学基金项目(编号: 30700506), 国家科技支撑计划项目(编号: 2006BAD01A03)资助

作者简介: 林海建(1981-), 男, 博士研究生, 研究方向: 玉米逆境分子生物学与遗传育种。

Tel: 0835-2882946; E-mail: linhj521@yahoo.com.cn

通讯作者: 潘光堂(1956-), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向: 玉米生物技术与遗传育种。

Tel: 0835-2882714; E-mail: pangt1956@yahoo.com.cn

and metabolomics. Therefore, it is possible to locate genes in certain key metabolism pathways. Through these procedures, it is also possible to look for critical genes in the pathway and to well understand the molecular mechanism of resistance/tolerance. These results can be as a guidance for increasing the resistance/tolerance of stressed conditions using biotechnology methods in future. This paper mainly focused on and discussed the advances of microarray analysis of stressed conditions-related genes in plants.

Keywords: biotic/abiotic stresses; gene chip; stress response; expression and regulation

生物和非生物逆境是影响植物生长发育的重要限制性因素。干旱、水淹、病害和养分缺乏等逆境胁迫影响面积广，危害程度大，造成每年世界粮食作物的大量减产，对世界粮食生产构成了严重的威胁^[1]。作物育种的最终目标是培育优质、高产的优良品种，而一个品种的优劣在某种程度上取决于该品种的生态（环境）适应性，作物抗逆育种已成为目前国内外作物高产育种的重要组成部分。研究发现，植物在遭受逆境胁迫时，并不是被动的防御，而是采取主动积极的措施来应对逆境胁迫^[2~5]。这些过程包括形态、生理生化和分子水平上的适应性变化，而分子水平上的变化起着决定性的作用。因此，从分子水平入手才能最终揭示植物逆境胁迫抗(耐)性这一复杂的生物学机制。cDNA微阵列和基因芯片从转录水平入手，能较全面地揭示逆境胁迫下整个基因组水平的表达情况，探明胁迫响应的分子网络，寻找胁迫响应的关键基因，为今后利用分子生物学技术和基因工程手段改良作物的抗逆性打下基础，更好地服务于农业生产。基因芯片技术最早由Fodor于1991年提出，后由Affymetrix公司率先研制开发。基因芯片技术是人类基因组计划逐步实施和分子生物学的迅猛发展的产物，是集微电子学、生命科学、计算机科学和光电化学为一体并在原来核酸杂交的基础上发展起来的分析不同组织或同一组织不同处理下基因差异表达的新方法。基因芯片自1995问世自今，该技术广泛运用于基因表达谱分析、新基因的发现、功能基因组研究等领域。近年来，利用基因芯片研究植物逆境胁迫下的基因表达已成为植物逆境分子生物学的热点领域。

1 基因芯片在研究植物逆境基因表达中的应用

诸如养分、病害、干旱、高盐、重金属等逆境胁迫均会诱导植物基因的表达，这些诱导表达的基因一部份参与了对植物不利的代谢过程，对植物造成伤害，而更多的基因则与植物逆境胁迫下自我适应性反应有关。近年来，阐明植物逆境胁迫下的分子机制已成为许多学科研究的热点，基因芯片技术已成为这些研究的重要手段，大量研究结果也证实了基因芯片在揭示植物逆境基因表达中的重要作用。

1.1 基因芯片在植物养分胁迫下基因表达研究

氮、磷、钾和硫是植物生长发育过程所必须的重要元素，任何一种元素的缺乏将导致植

物生长发育受阻,影响植物的正常生长^[6, 7]。铁等微量元素,在植物细胞中,其含量虽不及氮、磷等大量元素,但它们的缺乏也会影响植物的正常生长^[8]。低磷、低氮和低钾胁迫下,根系形态结构的变化被认为是高等植物对其响应胁迫的形态学反应^[9~11]。而相关基因的诱导表达则是分子水平上的适应性表现,其中一部分基因直接或间接参与了胁迫下根系形态结构的适应性变化过程^[12, 13],而另一部分则直接参与了营养元素的吸收利用^[14~16]。目前,基因芯片技术已在拟南芥、水稻、玉米和小麦等植物响应养分胁迫的基因表达中得到了应用,并得到了一些胁迫响应的关键基因,完善了植物的耐养分胁迫的分子网络信息,为今后利用基因工程手段创制作物养分高效利用基因型奠定了一定的基础。

1.1.1 基因芯片在植物氮胁迫基因表达中的研究进展

Wang等^[17]利用包含了7 942个cDNA克隆,代表5 524个单基因的拟南芥GEM1基因芯片在低氮和高氮水平下分别检测到25和49个差异基因。这些基因中,除与氮代谢直接有关的一些基因外,还包括一写调控蛋白如MYB转录因子、钙Antiporter和天冬氨酸合成酶等代谢酶类。从表达形式上看,多数基因的在低氮水平下存在的瞬时的诱导表达,而在高氮水平下则是持续性的表达;同时,也存在少数基因在低氮和高氮水平下均是瞬时或持续性表达。Northern分析还发现了2个基因,分别编码铵载体的AMT1;1和MADS-box 因子的ANR1的表达受到高氮水平的抑制。Wang等^[18]利用包含22 500个探针的Affymetrix ATH1基因芯片研究了拟南芥根系和茎叶低氮处理20 min后基因的瞬时表达情况,结果发现在根系中有1 176个探针存在着上调或下调的差异表达,远远超过了茎叶中的183个。由此表明拟南芥能在短时间内对低氮胁迫做出响应,其根系的响应程度要大于茎叶。基因的聚类分析表明,这些差异表达基因中有直接参与氮素吸收和转运,如Nitrate transporters^[19]、硝酸还原酶,亚硝酸还原酶等氮代谢过程中的酶类和糖、硫代谢过程中的调控基因。该研究同时表明,短时间的低氮胁迫会影响植物基因的表达水平,在影响氮素代谢相关基因表达的同时,也会对其他其它元素的代谢过程产生影响。而Scheible等^[20]结合Affymetrix ATH1拟南芥基因芯片和RT-PCR分析了拟南芥长时间(2 d)低氮胁迫和短时间(30 min~3 h)恢复供氮的基因表达情况。研究得到有超过1 400个基因受到低氮胁迫或恢复供氮的影响,这些基因涉及到了初级和次级代谢、蛋白质合成、细胞生长、调控等相关基因。研究同样表明了氮、碳和磷等元素的代谢是相互关联的。

Lian等^[21]利用包含11 494个能代表10 422个单基因的水稻ESTs制备的cDNA微阵列研究了低氮处理0 h、20 min、1 h和2 h的水稻幼苗叶片和根系的基因表达情况。研究表明,低氮处理下水稻幼苗叶片基因表达差异不明显,而根系中检测出471条ESTs存在着差异表达,其

中115个上调表达, 358个下调表达, 主要表现为: (1) 与光合作用和能量代谢有关的基因下调表达; (2) 与逆境胁迫有关的基因可划分为上调和下调表达两种形式; (3) 调控因子的表达也存在上调和下调表达两种形式。Bi等^[22]利用拟南芥全基因组外显子芯片(包含26 367个已知基因)系统分析了拟南芥茎叶在不同供氮水平和不同处理时间下的基因表达情况。研究发现, 与正常供氮相比, 中度缺氮下仅52个基因存在差异表达, 其中51个上调表达, 1个下调表达; 而严重缺氮下有461个基因存在着差异表达, 其中271个上调表达, 190个下调表达。进一步分析表明, 在中等低氮胁迫下, 没有氮素代谢直接有关的基因被诱导表达; 而在严重缺氮的情况下, 许多与氮素同化过程有关的基因存在着下调表达。这些差异表达的基因涉及的生命过程较多, 可以归纳为以下几个方面: (1) 氮素的吸收和同化过程, 如*NR1*、*NR2*、*NRT1*和*NRT1.1*等基因; (2) 光合作用与呼吸作用等生理过程, 如细胞色素*GS1*、PSI type II chlorophyll a b-binding protein、ADP-glucose pyrophosphorylase等; (3) 蛋白质合成与降解过程, 如ribosomal genes、Cys peptidase等; (4) 植物激素诱导与信号转导的相关基因, 如Auxin、Cytokinin等; (5) 逆境胁迫相关基因, 如*GST*等。

1.1.2 基因芯片在植物低磷胁迫基因表达中的研究进展

近年来, 已有许多研究利用基因芯片从整个基因组水平探究磷饥饿诱导植物基因差异表达, 发掘植物磷代谢过程中的关键基因, 从而有望从转录水平上阐明植物的耐低磷机制。基因芯片技术已在拟南芥^[23, 24]、水稻^[25]、玉米^[26]和大豆^[27]等植物的耐低磷机理研究中得到了应用。在研究初期, 由于受到基因芯片上探针数目的限制, 得到信息量较少, 如Wu^[28]等利用基因芯片研究磷饥饿3 d的拟南芥根系和叶片的基因表达, 其探针数目仅为6 172个, 近22%的基因存在差异表达。而Hammond等^[23]利用包含8 100个基因的芯片研究低磷处理100 h的拟南芥地上部组织差异基因表达时, 仅发现61个基因存在着差异表达。随着基因组学和分子生物学的发展, 高通量测序技术的应用, 越来越多的基因组序列和功能被人们所发现, 其芯片上探针数目也随之增长, 其覆盖程度也大大加深。到2007年, Affymetrix公司推出的拟南芥全基因组芯片, 其探针数已达到26 376个, 能够较好的检测几乎整个基因组的表达情况^[22]。Wasaki等^[25]利用包含8 987个克隆的cDNA微阵列分析了低磷(-P)和正常供磷(+P)下水稻根系的基因差异表达情况, 发现大部分差异表达基因涉及了许多重要代谢过程的改变, 包括: (1) 经糖酵解途径的有机酸合成过程中的C供给过程; (2) 脂质代谢过程的变化; (3) 涉及到Al、Fe和Zn等金属元素代谢过程的变化。Wasaki等^[29]进一步对其中一个受低磷诱导表达的克隆进行了深入研究, 定名为*OsP11* (*Oryza sativa* phosphate-limitation inducible gene 1), 发现其在水稻低磷胁迫下调控其它基因的表达有关。Misson等^[30]采用Affymetrix (ATH1)基因芯片研

究了拟南芥低磷胁迫下基因表达差异,发现有866个基因存在着差异表达,占全部基因的3.7%。其中上调表达的有612个,下调表达的有254个。基因聚类分析表明,这些差异基因主要涉及了各种代谢途径、离子转运、信号转导、转录调控和与其他一些与生长发育有关的生命过程。Moseley等^[31]对莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii* L.)野生型和*psr1*突变型细胞在低磷和正常供磷下的cDNA微阵列分析发现,PSR1不仅控制着低磷水平下的电子传递,同时还涉及到了光合作用、细胞质和叶绿体翻译过程、分子伴侣和蛋白酶等相关基因。同时还在野生型细胞中发现了与硫代谢有关的基因,表明PSR1可能还与硫的吸收有关。Muller^[24]等利用包含21 500个基因的拟南芥基因芯片研究了低磷、蔗糖培养及互作下基因差异表达情况。研究发现,在磷饥饿下,分别有171和16个基因存在着上调和下调表达;而在低磷加蔗糖共培养的条件下,分别有337个基因诱导表达,307个基因的表达受到抑制。这些基因包括:(1) 一些与磷吸收有关的新的后选基因;(2) 一些与磷信号相关的转录因子和信号蛋白;(3) 早先研究发现的一些与糖响应有关,但同时也受磷饥饿的调控基因;(4) 早先研究发现的受磷饥饿调控,同时也对蔗糖做出响应的基因。研究还发现,150多个基因协同和对抗性地受到两个环境因子的调控。由此表明植物磷素代谢和碳素代谢之间的关系是非常密切的,某些基因的在两种环境因子协同作用下的调控要比单个因子作用要重要得多。Hernandez等^[27]利用代表2 212个单基因的cDNA微阵列研究大豆低磷胁迫下根系基因差异表达情况,126个基因参与了低磷胁迫响应过程,其中有62%的基因受低磷胁迫的诱导。该研究同时还利用含372个转录因子的转录因子(TF)微阵列分析了在低磷胁迫下的表达,结合RT-PCR技术发现了17个TF因子存在着差异表达。包括MYB因子在内的4个TF因子,受到低磷胁迫的诱导。Carlos^[26]等采用玉米寡核苷酸芯片对低磷胁迫处理1、3、6和10 d的玉米幼苗进行了基因差异表达分析,该芯片包含了到目前为止最新的玉米基因组全部基因。研究发现了1 179个差异表达的基因,其中上调表达的820个,下调表达的363个。这些基因同样涉及到了各种代谢、信号转导和发育等生命过程。

1.1.3 基因芯片在植物低钾胁迫基因表达中的研究进展

在过去,与植物氮和磷的研究相比,植物钾素营养的研究并不是很多。而基因芯片在植物低钾胁迫基因表达中的研究同样存在这样的问题。Armengaud等^[32]利用拟南芥全基因组基因芯片研究了拟南芥根系和叶片在低钾处理后恢复供钾过程中的基因表达情况,研究发现在恢复供钾2 h的根系有387个基因存在差异表达;而茎叶中仅为24个,但随着恢复时间增长为6 h,其差异表达基因迅速增加为799个。由此表明,根系在对钾营养的响应过程中比茎叶更为迅速,这是可以理解的,但这种调控网络在短时间内会迅速扩展到其它组织。基因的聚类

表明, 这些差异表达基因涉及了各种代谢(如多胺代谢等)、离子转运(如高亲和力钾转运子HAK5、氮转运子NRT2.1)、细胞防御(如jasmonic acid合成相关基因)和信号转导(Ca^{2+} Signaling)等过程。

1.1.4 基因芯片在植物硫胁迫基因表达中的研究进展

Nikiforova等^[33]利用含有7 200个基因的cDNA微阵列, 分析了硫饥处理6、10和13 d的拟南芥幼苗, 共检测到1 507个差异表达的基因, 其中632个基因诱导表达, 这些上调表达的基因中, 除与硫代谢有关外, 还包括黄酮类化合物、生长素和茉莉酸(JA)等合成途径中的某些基因, 并推测这些基因可能参与了植物硫饥饿胁迫的响应过程。Akiko等^[34]利用拟南芥基因芯片(Affymetrix, Santa Clara, CA, 8000 genes)对拟南芥硫转运子*SULTR1;2*突变型和野生型进行了低硫胁迫下基因表达的比较分析。研究发现, 突变型与野生型相比, 分别检测出28个上调和下调表达的基因。这些基因涉及了硫的吸收与利用、硫的次级代谢和氧化胁迫反应等过程。Hira等^[35]利用能代表拟南芥9 000个基因, 来源于13 000条EST序列的Macroarray基因芯片分析了拟南芥在无硫介质培养48 h后的基因表达情况, 结果表明, 分别有216和282条EST序列在叶片和根系中上调表达; 276和690条ESTs序列在叶片和根系中下调表达。这些差异表达的基因主要包括: (1) 5'-腺苷酰磷酸硫酸酯还原酶基因(5'-adenylylphosphosulfate reductase, APR2); (2) 茉莉酸(JA)合成过程的相关基因, 如AtLOX2和OPR1; (3) 核酸结合蛋白和转录因子; (4) 光合作用和呼吸作用等过程的某些基因; (5) 逆境胁迫响应基因, 如Ccr2等; (6) 硫的同化与转运相关基因。许多基因都与前人的研究结果相一致。该研究同时还进行了O-乙酰丝氨酸(OAS)与硫饥诱导基因表达的比较分析, 发现存在正向的相关性, 表明OAS可能在硫饥胁迫下分子水平的适应性反应过程中扮演着重要的角色。

转录组水平与代谢组水平相结合已在植物硫素营养研究中得到了应用, Hoefgen等^[36]做了较为详细的综述。通过比较分析, 能够较为准确和全面地了解低硫胁迫下基因的响应过程。Hira等^[37]同样利用能代表拟南芥9 000个基因, 来源于13 000条EST序列的Macroarray基因芯片, 并结合包含3 000个蛋白点的代谢组芯片研究了氮、硫及其互作下拟南芥转录组与代谢组差异表达情况。研究结果主要表现在以3种形式: (1) 长时间的低硫、低氮及互作下其转录组和代谢组之间表现出差异表达的一致性; (2) 转录组和代谢组的表达在长时间和短时间低硫处理下存在着差异; (3) OAS, 硫代谢过程中一个关键调控因子^[35], 在低硫胁迫下的转录组与代谢组变化上存在着一致性。该研究揭示了氮、硫在代谢过程中的相互作用, 利用代谢组证实了OAS作为低硫胁迫响应的关键调控因子的真实性。

1.1.5 基因芯片在植物铁、锌缺乏下基因差异表达中的研究进展

Negishi等^[38]利用水稻8 987条EST序列制备的cDNA微阵列研究大麦铁缺乏下根系基因的差异表达,检测到有大约200个基因受到铁缺乏的诱导。大约50个基因在白天和晚上存在着差异表达,其中5个基因经Northern验证了其表达的真实性,这5个基因涉及了麦根酸(MA)的分泌过程,而MA的分泌是禾本科植物应对铁缺乏的重要特征^[39]。在这些诱导表达的基因中,还发现了与甲硫氨酸合成和通过Yang循环的再利用过程有关的基因,这些都在MA的合成中具有重要的作用。O'Rourke等^[40]采用了包含9 728个大豆根系ESTs序列的cDNA微阵列比较分析了大豆铁高效(Fe-efficient)和铁低效((Fe-efficient)近等基因系(NIL)间基因表达的差异,在低铁环境下检测到43个基因,而在正常供铁环境未检测到差异基因。研究进一步发现,57%的差异基因与已知的胁迫响应基因存在序列相似性。鼠耳芥(*Arabidopsis halleri*)与拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)是近缘物种,前者被认为具有较高的茎叶锌累积能力。Becher等^[41]采用拟南芥基因芯片并以拟南芥作为对照,研究了正常和低锌浓度处理4 d的鼠耳芥地上部基因表达情况。研究发现的差异表达基因为:(1) 与拟南芥ZtAIP6高度相似的Zn/Fe 转运子,在细胞锌吸收系统中起主要作用;(2) P-Type 金属ATP酶;(3) 阳离子扩散因子,ZAT/AtCDF1;(4) nicotianamine合成酶,AtNAS3。研究结果表明了鼠耳芥耐低锌胁迫的策略可能表现在一些保持细胞内锌稳定的基因的持续性表达,同样的结果在Weber等^[42]的研究中也得到了证实,这对研究模式植物拟南芥锌胁迫下基因表达具有重要的指导作用。天蓝遏蓝菜(*Thlaspi caerulescens* L.)被认为具有较高的锌积累能力,但并不表现出毒害症状,由此表明可能存在着某种特殊的调控机制。van de Mortel等^[43]利用Agilent 拟南芥基因芯片研究了拟南芥和天蓝遏蓝菜(*Thlaspi caerulescens* L.)在不同锌浓度下基因的表达情况,研究发现,在低Zn处理后再补充的过程中,分别有608和352个基因在拟南芥和天蓝遏蓝菜(*Thlaspi caerulescens* L.)中存在着3倍以上的差异表达。在拟南芥中,仅有14%的基因与锌胁迫响应有关。在正常、低和高锌浓度下,拟南芥和天蓝遏蓝菜(*Thlaspi caerulescens* L.)之间有超过2 200个基因存在差异表达,这些基因涉及了保持细胞金属自身稳定、非生物胁迫响应和木质素合成等过程。

1.2 基因芯片在铝毒和砷毒胁迫下基因表达研究进展

环境中过多的铝和砷等离子将会对植物造成毒害,基因芯片技术已应用到阐明植物耐铝、砷等离子胁迫的响应机制,发掘胁迫响应的关键基因^[44, 45]等研究领域。Guo等^[46]利用两个小麦近等基因系根系构建铝毒胁迫下SSH文库,共1 065个假定基因用于制备cDNA微阵列。该研究分析了两近等基因系在铝毒胁迫处理7个时间点(15 min~7 d)的基因差异表达情况,发现包括铝毒胁迫诱导的苹果酸转运子1、 β -葡萄糖苷酶和磷酸稀醇式丙酮酸羧化酶等

28个基因在耐Al近等基因系中诱导表达；而一系列包括与氮、硫和铁饥饿相关基因如分子伴侣类似物、氮调控等基因在铝毒敏感近等基因系中诱导表达。该研究表明了铝毒胁迫下，这些在耐铝毒近等基因系中诱导表达的基因可能对耐铝毒起着重要作用。Chandran等^[44]采用包含16 000个基因作为探针的寡核苷酸微阵列分析了苜蓿铝毒胁迫下的基因差异表达情况，检测到2 782个基因存在着差异表达，其中分别有324和267个基因存在2倍以上的上调和下调表达。上调表达的基因主要与细胞壁修饰和逆境胁迫有关；而下调表达的基因主要在初级和次级代谢、蛋白质合成与加工、细胞循环等过程发挥作用。该研究还发现9个在根系成熟区域表达的基因可能在耐铝过程中具有重要的作用。Houde和Diallo^[47]以4份小麦近等基因系(2份耐Al和2份铝敏感近等基因系)为材料，结合Affymetrix小麦全基因组芯片共发现83个基因对铝毒胁迫做出响应，其中25个与耐铝性有关，主要是ALMT-1苹果酸转运子、谷胱甘肽S-转移酶、草酸氧化酶、果糖1,6二磷酸酶、细胞色素P450单加氧酶、纤维素合成酶、Zn指转录因子、抗病反应蛋白等。这些与Al胁迫相关基因的发现有助于阐明植物耐Al毒胁迫的分子机制。

Abercrombie等^[45]对砷毒胁迫下的拟南芥进行了转录组分析，发现与抗氧化相关基因(如超氧化物歧化酶基因，SOD、过氧化物酶，POD等)的表达在砷毒胁迫响应过程中扮演着重要的角色。研究发现，叶绿体Cu/Zn超氧化物歧化酶基因、Cu分子伴侣等在受砷毒胁迫的诱导表达的同时，铁 SOD的表达却受到抑制。而大部分受砷抑制的基因却受磷饥的诱导，推测其可能在植物磷饥条件下，扮演了磷的某些角色。该研究为今后研究植物砷毒胁迫响应的分子机制提供了一定的参考。

1.3 基因芯片在植物病、虫害胁迫下基因表达研究进展

在植物和环境生物因子(昆虫、微生物、病毒等)的长期进化过程中，保持着一种动态的平衡关系。但是随着环境的恶化和生物多样性的降低、栽培品种遗传基础狭窄和单一等问题日益严重，植物病虫害对植物的危害有加大的趋势。从目前的研究来看，单纯的筛选抗病虫品种已变得越来越困难，而生物技术手段的运用为我们进行抗病育种指明了新的方向。但是，植物的抗病(虫)机制是非常复杂的，只有阐明了这种复杂的防御机制，明确了抗病(虫)途径中的关键基因，才能为今后利用基因过程手段改良植物的抗病(虫)打下基础。目前，基因芯片技术已在植物的抗病(虫)分子机制研究中得到了运用^[48~50]。

1.3.1 基因芯片在植物病害胁迫下基因差异表达中的研究进展

以往的研究发现，植物抗病性与信号转导途径有关，Schenk等^[51]利用cDNA微阵列研究了拟南芥在芸苔链格孢菌浸染和水杨酸、甲基化茉莉酸等抗病相关信号分子处理下的基因表

达情况。在受芸苔链格孢菌浸染的拟南芥叶片中发现上调表达的基因168个，下调表达的基因39个，其中包括一些已知的抗病相关蛋白。同样，在水杨酸、甲基化茉莉酸和乙烯处理下也分别检测到192、221和55个基因上调表达。进一步分析表明，在受病菌诱导表达的大多数基因同时也受到一种或多种处理的诱导，这进一步印证了植物抗病性与这些信号分子的密切关系。同样，Martin等^[49]采用ATH1全基因组基因芯片系统性地研究了拟南芥受丁香假单孢菌、芸苔链格孢菌浸染以及3种虫害胁迫(以下阐述)下基因表达与水杨酸(SA)、茉莉酸(JA)和乙烯(ET)等抗病信号分子之间的联系。结果表明，在不同病菌浸染和虫害胁迫下，一部分诱导表达的基因存在差异，另一部分则表现出一定的相似性。如在受芸苔链格孢菌、纹白蝶(*Pieris rapae*)和西花蓟马(*F. occidentalis*)浸染或攻击诱导表达的基因中，有超过50%同样受丁香假单孢菌浸染的诱导表达。这些基因中同样涉及到水杨酸(SA)、茉莉酸(JA)和乙烯(ET)等信号转导过程。Rinaldi等^[52]利用cDNA微阵列研究了青杨叶锈病菌接菌48h后杨树基因的表达，共检测到1730个差异表达的基因，其中3倍以上上调表达的有150个，3倍以下下调表达的62个。其中涉及了R基因的表达、R基因的靶向基因的表达，如肌醇-3磷酸合成酶以及病程相关蛋白。该研究同时还发现了一些上调表达但功能未知的基因。

植物与病原菌之间的组织相容性(Compatibility)是病原菌对抗植物的防御系统并吸收营养的过程，其中最关键的过程是植物吸器分化(Haustorium's differentiation)。Fabro等^[50]研究了拟南芥受白粉病菌(*Golovinomyces cichoracearum*)浸染后吸器形成过程的基因表达情况，研究发现了一些参与水杨酸(SA)、茉莉酸(JA)信号途径的新的调控基因，其上调表达情况导致水杨酸(SA)、茉莉酸(JA)含量的增加，从另一个方面反应出水杨酸(SA)、茉莉酸(JA)在植物抗病中的作用。另外，双生病毒(Geminiviruses)是一类利用寄主植物的DNA复制酶复制自身遗传物质的单链DNA病毒，甘蓝菜曲叶病毒(Cabbage leaf curl virus, CaLCuV)就是其中一类。Ascencio-Ibanez等^[53]利用拟南芥ATH1基因芯片研究了拟南芥受CaLCuV浸染12 d后的基因表达情况，共检测到差异表达基因5365个。数据分析表明，CaLCuV诱发了与抗病有关的水杨酸(SA)信号途径，同时还有部分基因涉及到以下几个方面：(1) 细胞程序性死亡；(2) 基因毒物胁迫；(3) DNA修复；(4) 细胞复制相关基因。

1.3.2 基因芯片在植物虫害胁迫下基因差异表达中的研究进展

Puthoff等^[48]利用拟南芥基因芯片分析了拟南芥在不同的胞囊线虫属的作用下的基因表达情况，128个基因在甜菜胞囊线虫作用下存在差异表达，而在大豆胞囊线虫的作用下仅检测到12个，这12个基因也同时受到甜菜胞囊线虫诱导或抑制。该研究结合RT-PCR技术对这些基因做了进一步分析，表明了某些差异表达基因参与了植物抗虫寄生过程。Martin等^[49]不

仅利用基因芯片研究了拟南芥抗病反应过程中的基因表达，同时也做了纹白蝶(*Pieris rapae*)、西花蓟马(*F. occidentalis*)和桃蚜(*Myzus persicae*)危害过程中的基因表达情况研究。结果也表明了水杨酸(SA)、茉莉酸(JA)和乙烯(ET)等信号转导途径在拟南芥抗虫反应过程中的重要作用。值得注意的是，茉莉酸(JA)合成过程受虫害的诱导要明显高于受病害的诱导，其中一些基因还具有虫属专一性。取食韧皮部的昆虫对植物伤害较小，能够长期间的与植物相互作用。利用基因芯片发现了一些专以韧皮部为食的昆虫在危害的过程中也会对水杨酸(SA)、茉莉酸(JA)和乙烯(ET)等信号转导途径产生影响，由此表明，这些信号转导途径在植物与这类昆虫相互作用的过程中具有重要的作用^[54]。Kempema等^[55]利用Affymetrix ATH1拟南芥基因芯片研究了拟南芥在被银叶粉虱(*Silverleaf whitefly*)取食韧皮部过程中的基因表达情况，共检测到700个上调和556个下调表达的基因。研究进一步表明，其中涉及次级代谢和防御过程的基因与咀嚼性昆虫，如蚜虫对拟南芥的作用是不同的。

植物在病虫害作用下，其防御系统可以简单地分为两部分，第一是某些共同的防御途径，如水杨酸(SA)、茉莉酸(JA)和乙烯(ET)等信号转导途径，对阐明植物抗病虫胁迫的分子机制具有重要的指导作用；也存在某些病害或虫害专一的调控网络，某些专效性基因的表达可能更为关键。

1.4 基因芯片在植物盐胁迫下基因差异表达研究

土壤含盐量过高影响植物的生长、发育，造成作物产量的下降，严重时将对植物的生存构成威胁。植物耐盐的分子机理一直是人们研究的热点，基因芯片的应用为阐明植物的耐盐分子机理提供了可能。Jiang等^[56]采用包含23 686个拟南芥基因的cDNA微阵列分析了盐胁迫处理6 h, 24 h, 和48 h后根系的基因表达情况，分别检测到2,433和2,774个基因受盐胁迫的诱导和抑制。该研究除了得到一些与胁迫有关的基因外，还包括以下基因的作用：(1) 一些转运子家族，如MATE、LeOPT1-like；(2) 信号分子，如PERK激酶、MLO-like 受体；(3) 碳水化合物活性酶，如XTH18；(4) 转录因子，如ZIM家族、WRKY和NAC；(5) 其他蛋白，如4CL-like、COMT-like、LOB-Class 1。该研究有助于完善植物耐盐胁迫的调控网。Zhou等^[57]采用包含36 926个基因的寡核苷酸微阵列分析了盐胁迫下茎、旗叶和花序的基因表达情况。分析结果表明，除少数重叠的基因外，多数基因对盐胁迫响应都表现出组织特异性，包括一些转录因子和细胞信号分子。

利用近缘物种或同一物种的不同耐盐基因型能够较好地阐明植物耐盐机制，特别是利用一些遗传背景相似，只有部分基因存在差异的基因型，如重组自交系，近等基因系以及近缘关系较近的物种。早在2001年，Kawasaki^[58]等利用1个水稻耐盐基因型和1个敏感基因型

研究了盐胁迫15 min到1周的转录组变化情况。发现耐盐基因型在不同时间点感受盐胁迫要早于敏感基因型，在胁迫的早期，蛋白合成与转换增加，而处理后期则表现为一些胁迫相关基因的诱导。Taji等^[59]采用拟南芥基因芯片比较了盐芥和拟南芥在盐胁迫下的基因表达情况，研究表明，在250 mmol/L NaCl胁迫下，盐芥中只有少数基因存在差异表达。值得注意的是，与拟南芥相比，盐芥甚至在无盐胁迫条件，一些通常情况下被认为是胁迫诱导表达的基因如Fe-SOD、P5CS、PDF1.2、P-protein、AtNCED、b-glucosidase和SOS1等基因也高度表达。因此推测盐芥具有较高的耐盐性可能与这些胁迫诱导响应基因在盐芥内持续性表达有关。Walia等^[60]以两份耐盐性差异较大的水稻重组自交系(RIL)为研究材料，利用包含55 515探针的水稻基因组芯片研究了营养生长期盐胁迫下水稻基因的表达。研究结果发现，敏感基因型诱导表达的基因要多于耐盐基因型，其中涉及到了核黄素合成途径的基因。在两基因型中同时发现了细胞壁合成基因的差异表达，表明细胞壁重建在植物耐盐胁迫适应性过程中的具有重要作用。禾本科作物大麦和水稻在盐胁迫基因表达上也进行了比较分析，Ueda等^[61]采用大麦cDNA微阵列分析了水稻和大麦在盐胁迫1 h和24 h后的基因差异表达情况，以期阐明大麦和水稻在耐盐差异上的分子基础。研究发现，在盐胁迫1 h和24 h后，一些基因仅在大麦中上调表达，在水稻中并无表达。叶片含水量在胁迫10 h后降低，但是在处理24~48 h后仅在大麦中开始恢复，同时发现Na⁺在大麦中的转运也要比在水稻中有效得多。结合其他研究结果发现，这种差异主要是由与胁迫有关的基因在大麦中持续性诱导表达有关。如质膜蛋白3和无机焦磷酸化酶在盐胁迫的大麦中持续表达，而在水稻上是瞬时表达。该研究结果有助于阐明大麦在耐盐性上优于水稻的分子基础，也为今后改良水稻的耐盐性奠定了一定的基础。

1.5 基因芯片在植物干旱缺水胁迫下基因差异表达研究中的应用

干旱胁迫影响植物的正常生长和作物产量的提高，在干旱胁迫下，植物会主动采取相应的适应性变化来应对干旱胁迫。但是，人们对植物复杂的抗旱机制的认识还不十分清楚。Ozturk等^[62]利用cDNA微阵列研究了大麦干旱胁迫下基因表达情况，有15%的转录签受到干旱的诱导或抑制，上调表达的转录签中主要涉及到了茉莉酸合成相关基因、类金属硫蛋白、晚胚胎期丰富(late-embryogenesis-abundant, LEA)基因、ABA相关基因等。多个基因参与了胁迫响应与信号转导过程。Oono等^[63]采用包含7 000条cDNA的微阵列研究了拟南芥脱水胁迫后的水合过程的基因表达情况，检测到152个水合诱导基因，并与脯氨酸和水淹诱导基因表达过程相似。有58个基因包含ACTCAT序列，该序列同时存在于脯氨酸和低渗透压胁迫响应基因的启动子区域，表明ACTCAT是在水合诱导基因表达中的主要的顺式作用元件。基因的

功能分析还发现这些基因不仅在胁迫恢复中发挥作用，同时植物的恢复生长过程中也很重要。**Roche**^[64]等采用主要包含代谢和信号转导过程的800条cDNA克隆所制备的微阵列做了以下系统分析：(1) 耐旱基因型和敏感基因型在干旱条件下基因的差异表达；(2) 叶片和胚在干旱胁迫下基因的差异表达。结果表明，在不同基因型和器官中共检测到409个差异表达的基因，这些差异基因的表达在耐旱基因型和敏感基因间表现出对立的关系，表明了耐旱基因型相对敏感基因型耐旱的原因在于某些基因在质上的差异表达，而非量的差异。研究还发现，与氨基酸和碳水化合物代谢、信号转导等过程有关的基因在干旱胁迫下的胚中诱导表达，而在叶中是抑制表达，说明生殖器官和营养器官在响应干旱胁迫上是不同的。

1.6 基因芯片在植物低温胁迫下基因差异表达研究中的应用

基因芯片和cDNA微阵列已在许多植物的低温胁迫基因表达研究中得到了应用。**Seki**等^[65]采用多个逆境胁迫下得到的cDNA文库制备的cDNA微阵列研究了对低温胁迫的基因响应。研究发现，19个cDNA探针受到低温胁迫的诱导，其中10个基因是以前没有报道过的，2个基因作用于与低温胁迫诱导有关的DREB1A因子。低温驯化(Cold acclimation)是高等植物耐低温胁迫的一个重要现象，以前的研究已经证实了低温驯化过程与CBF转录因子的活化诱导有关^[66]。**Fowler**等^[67]利用大约8 000个转录组芯片研究了拟南芥低温胁迫的基因响应，共检测到306个差异表达基因，218个上调表达，88个下调表达。在差异表达的基因中，有12%的基因属于CBF转录因子的成员，28%不受CBF因子的调控。研究还发现了48个是已知或推测的转录因子。两个基因，RAP2.1和RAP2.6 分别受CBF表达的激活，推测其可能参与了CBF调控子的亚调控。这些研究结果为阐明植物的耐冷性的分子机制提供重要参考。**Yamaguchi**等^[68]研究了水稻花药小孢子时期在低温胁迫下基因差异表达情况，在8 987个cDNA克隆中共检测160条存在差异表达。经RT-PCR验证后发现3个新基因在低温胁迫后发生了显著的变化。**Dhanaraj**等^[69]采用cDNA微阵列分析了蓝莓(*Vaccinium section Cyanococcus*)在大田和室内的耐低温胁迫研究发现，上调表达的基因在冷室中要比大田的要多，有些基因仅在室内被诱导表达，比如与抗胁迫相关的基因，一些编码糖酵解和TCA循环的酶类和一些与蛋白质合成相关的酶类。而仅在大田环境被诱导表达的酶类主要与光胁迫有关，因此表明在进行模拟冷胁迫时，不同环境下所得到的结果是有差异的，在以后的试验中应加以考虑。**Kaplan**等^[70]等结合转录签与代谢签相结合的方法，研究了拟南芥在冷驯化过程的基因表达与代谢变化情况，揭示了在冷驯化过程中一些代谢途径通过某些基因的差异表达而发生改变，以及在耐冷性中的重要作用。

1.7 利用基因芯片研究miRNA在植物逆境胁迫下的表达

miRNA是一类长度大约为19~21nt的内源的调控RNA,已有的研究表明,miRNA在调控植物的生长发育与应对逆境胁迫中具有重要的作用^[71~73]。克隆和生物信息学预测是研究植物逆境miRNA常用方法,近年来,miRNA芯片作为基因芯片新的类型,在研究植物逆境miRNA表达中得到了应用。zhou等^[74]利用miRNA基因芯片从拟南芥植株中筛选与UV-B辐射相关的miRNA,并提出新的生物信息学方法来验证得到的与UV-B辐射有关的miRNA和它们在基因表达调控中的功能。该研究得到了21个miRNAs,分别属于11个miRNA基因家族,这些miRNA基因均受UV-B辐射的正调控。对这些miRNA的靶基因预测后发现,这些与UV-B辐射有关的miRNA可能参与了与微管细胞的分化、微管的发育、分生组织的形成和侧根形成等生理过程中的生长素(Auxin)信号传导过程。但要阐明这些由miRNA介导的抗UV-B辐射的分子机制,有待于进一步的研究。Liu等^[75]采用miRNA微阵列结合RT-PCR技术分析了拟南芥在高盐、干旱和低温胁迫下miRNA的表达情况,共检测到14个胁迫诱导的miRNA,其中受高盐、干旱和低温诱导的miRNA分别有10、4和10个。miR168, miR171和miR396同时受3种胁迫的诱导。这些结果有助于今后阐明miRNA在植物胁迫响应过程中的调控作用。

2 结 语

养分、病虫害、干旱、低温、高盐和元素毒害胁迫是目前影响作物产量的主要环境因素,基因芯片技术除了在研究这些环境因子对植物的影响外,也应用到了其他胁迫在影响植物基因差异表达^[76~78]。许多研究结果表明,植物抗逆的复杂程度远远超过了人们的想象。单纯从个别基因或层面去研究难以揭示这些复杂的机制。但是,近年来,结合基因组水平、蛋白组学和代谢组学等学科为一体的系统生物学的发展为研究植物的抗逆性提供了可能,而基因芯片和微阵列技术是系统生物学研究的基本技术,因为从转录水平入手是最基础最直接的研究基因的表达。在运用基因芯片研究植物逆境基因响应过程中,实验材料的选择同样重要。从目前的研究趋势看,选用那些遗传基础相似或相近,但在性状表现上存在较大差异的材料如近等基因系(NIL)、重组自交系(RIL)的应用。同时,模式植物的研究也能为其他作物的研究提供借鉴,特别是转录组水平上的比较研究是今后基因芯片研究的重要方向之一。随着许多作物全基因组测序的完成,许多以前未知序列(可能包含某些基因)也能作为芯片探针进行检测,弥补目前许多作物芯片探针数不足的缺点。我们深信,随着基因组学、蛋白质组学、代谢组学和生物信息学等学科的发展与结合,作物对逆境胁迫的抗性机制将一一被阐明。此时,借组分子生物学技术和基因工程手段提高作物的抗逆能力将变得越来越普遍。

参考文献(References):

- [1] Vance CP. Symbiotic nitrogen fixation and phosphorus acquisition. Plant nutrition in a world of declining renewable resources. *Plant Physiol*, 2001, 127(2): 390–397.
- [2] Madhava Rao KV, Raghavendra AS, Janardhan Reddy K, eds. Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants. XV. Hardcover. Springer, 2006.
- [3] Yokoi S, Bressan RA, Hasegawa PM. Salt Stress Tolerance of Plants. JIRCAS Working Report, 2002, 25–33.
- [4] Raghothama KG. Phosphate acquisition. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1999, 550: 665–693.
- [5] Beck EH, Fetting S, Knake CA, Hartig K, Bhattarai T. Specific and unspecific responses of plants to cold and drought stress. *J Biosci*, 2007, 32(3): 501–510.
- [6] Mengel K, Kirkby EA. Principles of Plant Nutrition. Bern, Switzerland:International Potash Institute. 2nd edition. 1979.
- [7] Fernandes MS, Pereyra Rossiello RO. Mineral nitrogen in plant physiology and plant nutrition. *Critical Rev Plant Sci*, 1995, 14(2): 111–148.
- [8] Mori S. Iron acquisition by plants. *Curr Opin Plant Biol*, 1999, 2(3): 250–253.
- [9] Zhang H, Forde BG. Regulation of *Arabidopsis* root development by nitrate availability. *J Exp Bot*, 2000, 51(342): 51–59.
- [10] Raghothama KG, Karthikeyan. Phosphate acquisition. *Plant Soil*, 2005, 274(1-2): 37–49.
- [11] Rosolem CA, Rossetto CAV, Fernandes DM, Ishimura I. Potassium fertilization, root morphology and potassium absorption by soybean. *J Plant Nutr*, 1993, 16(3): 479–492.
- [12] Jiang CF, Gao XH, Liao LL, Harberd NP, Fu XD. Phosphate starvation root architecture and anthocyanin accumulation responses are modulated by the gibberellin-DELLA signaling pathway in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2007, 145(4): 1460–1470.
- [13] Crawford NM, Glass ADM. Molecular physiological aspects of nitrate uptake in plants. *Trends Plant Sci*, 1998, 3(10): 389–395.
- [14] Thomine S, Lelièvre F, Debarbieux E, Schroeder JI, Hélène BB. AtNRAMP3, a multispecific vacuolar metal transporter involved in plant responses to iron deficiency. *Plant J*, 2003, 34(5): 685–695.
- [15] Yi KK, Wu ZC, Zhou J, Du LM, Guo LB, Wu YR, Wu P. OsPTF1, a novel transcription factor involved in tolerance to phosphate starvation in rice. *Plant Physiol*, 2005, 138(4): 685–695.

2087–2096.

- [16] Remans T, Nacry P, Pervent M, Girin T, Tillard P, Lepetit M, Gojon A. A central role for the nitrate transporter NRT2.1 in the integrated morphological and physiological responses of the root system to nitrogen limitation in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2006, 140(3): 909–921.
- [17] Wang R, Guegler K, LaBrie ST, Crawford NM. Genomic analysis of a nutrient response in *Arabidopsis* reveals diverse expression patterns and novel metabolic and potential regulatory genes induced by nitrate. *Plant Cell*, 2000, 12(8): 1491–1509.
- [18] Wang RC, Okamoto M, Xing XJ, Crawford NM. Microarray analysis of the nitrate response in *Arabidopsis* roots and shoots reveals over 1 000 rapidly responding genes and new linkages to glucose, trehalose-6-phosphate, iron, and sulfate metabolism. *Plant Physiol*, 2003, 132(2): 556–567.
- [19] Williams LE, Miller AJ. Transporters responsible for the uptake and partitioning of nitrogenous solutes. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 2001, 52: 659–688.
- [20] Scheible WR, Morcuende R, Czechowski T, Fritz C, Osuna D, Palacios-Rojas N, Schindelasch D, Thimm O, Udvardi MK, Stitt M. Genome-wide reprogramming of primary and secondary metabolism, protein synthesis, cellular growth processes, and the regulatory infrastructure of *Arabidopsis* in response to nitrogen. *Plant Physiol*, 2004, 136(1): 2483–2499.
- [21] Lian XM, Wang SP, Zhang JW, Feng Q, Zhang LD, Fan DL, Li XH, Yuan DJ, Han B, Zhang QF. Expression profiles of 10,422 genes at early stage of low nitrogen stress in rice assayed using a cDNA microarray. *Plant Mol Biol*, 2006, 60(5): 617–631.
- [22] Bi YM, Wang RL, Zhu T, Rothstein SJ. Global transcription profiling reveals differential responses to chronic nitrogen stress and putative nitrogen regulatory components in *Arabidopsis*. *BMC Genomics*, 2007, 8: 281.
- [23] Hammond JP, Bennett MJ, Bowen HC, Broadley MR, Eastwood DC, May ST, Rahn C, Swarup R, Woolaway KE, White PJ. Changes in gene expression in *Arabidopsis* shoots during phosphate starvation and the potential for developing smart plants. *Plant Physiol*, 2003, 132(2): 578–596.
- [24] Muller R, Morant M, Jarmer H, Nilsson L, Nielsen TH. Genome-wide analysis of the *Arabidopsis* leaf transcriptome reveals interaction of phosphate and sugar metabolism. *Plant*

Physiol, 2007, 143(1): 156–171.

- [25] Wasaki J, Yonetani R, Kuroda S, Shinano T, Yazaki J, Fujii F, Shimbo K, Yamamoto K, Sakata K, Sasaki T, Kishimoto N, Kikuchi S, Yamagishi M, Osaki M. Transcriptomic analysis of metabolic changes by phosphorus stress in rice plant roots. *Plant Cell Environ*, 2003, 26(9): 1515–1523.
- [26] Calderon-Vazquez C, Ibarra-Laclette E, Caballero-Perez J, Herrera-Estrella L. Transcript profiling of Zea mays roots reveals gene responses to phosphate deficiency at the plant- and species-specific levels. *J Exp Bot*, 2008, 59(9): 2479–2497.
- [27] Hernandez G, Ramírez M, Valdés-López O, Tesfaye M, Graham MA, Czechowski T, Schlereth A, Wandrey M, Erban A, Cheung F, Wu HC, Lara M, Town CD, Kopka J, Udvardi MK, Vance CP. Phosphorus stress in common bean: root transcript and metabolic responses. *Plant Physiol*, 2007, 144(2): 752–767.
- [28] Wu Pi, Ma LG, Hou XL, Wang MY, Wu YR, Liu FY, Deng XW. Phosphate starvation triggers distinct alterations of genome expression in Arabidopsis roots and leaves. *Plant Physiol*, 2003, 132(3): 1260–1271.
- [29] Wasaki J, Yonetani R, Shinano T, Kai M, Osaki M. Expression of the OsPII gene, cloned from rice roots using cDNA microarray, rapidly responds to phosphorus status. *New Phytol*, 2003, 158: 239–248.
- [30] Misson J, Raghothama KG, Jain A, Jouhet J, Block MA, Bligny R, Ortet P, Creff A, Somerville S, Rolland N, Dumas P, Nacry P, Herrera-Estrella L, Nussaume L, Thibaud MC. A genome-wide transcriptional analysis using *Arabidopsis thaliana* Affymetrix gene chips determined plant responses to phosphate deprivation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(33): 11934–11939.
- [31] Moseley JL, Chang CW, Grossman AR. Genome-based approaches to understanding phosphorus deprivation responses and PSR1 control in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Eukaryotic Cell*, 2006, 5(1): 26–44.
- [32] Armengaud P, Breitling R, Amtmann A. The potassium dependent transcriptome of *Arabidopsis* reveals a prominent role of jasmonic acid in nutrient signaling. *Plant Physiol*, 2004, 136(1): 2556–2576.
- [33] Nikiforova V, Freitag J, Kempa S, Adamik M, Hesse H, Hoefgen R. Transcriptome analysis

- of sulfur depletion in *Arabidopsis thaliana*: interlacing of biosynthetic pathways provides response specificity. *Plant J*, 2003, 33(4): 633–650.
- [34] Maruyama-Nakashita A, Inoue E, Watanabe-Takahashi A, Yamaya T, Takahashi H. Transcriptome profiling of sulfur-responsive genes in *Arabidopsis* reveals global effects of sulfur nutrition on multiple metabolic pathways. *Plant Physiol*, 2003, 132(2): 597–605.
- [35] Hirai MY, Fujiwara T, Awazuhara M, Kimura T, Noji M, Saito K. Global expression profiling of sulfur-starved *Arabidopsis* by DNA macroarray reveals the role of O-acetyl-L-serine as a general regulator of gene expression in response to sulfur nutrition. *Plant J*, 2003, 33(4): 651–663.
- [36] Hoefgen R, Nikiforova VJ. Metabolomics integrated with transcriptomics: assessing systems response to sulfur-deficiency stress. *Physiol Plant*, 2008, 132(2): 190–198.
- [37] Hirai MY, Yano M, Goodenowe DB, Kanaya S, Kimura T, Awazuhara M, Arita M, Fujiwara T, Saito K. Integration of transcriptomics and metabolomics for understanding of global responses to nutritional stresses in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(27): 10205–10210.
- [38] Negishi T, Nakanishi H, Yazaki J, Kishimoto N, Fujii F, Shimbo K, Yamamoto K, Sakata K, Sasaki T, Kikuchi S, Mori S, Nishizawa Naoko K. cDNA microarray analysis of gene expression during Fe-deficiency stress in barley suggests that polar transport of vesicles is implicated in phytosiderophore secretion in Fe-deficient barley roots. *Plant J*, 2002, 30(1): 83–94.
- [39] Takagi S. Naturally occurring iron-chelating compounds in oat- and rice-root washings. *Soil Sci Plant Nutr*, 1976, 22: 423–433.
- [40] O'Rourke JA, Charlson DV, Gonzalez DO, Vodkin LO, Graham MA, Cianzio SR, Grusak MA, Shoemaker RC. Microarray analysis of iron deficiency chlorosis in near-isogenic soybean line. *BMC Genomics*, 2007, 8: 476.
- [41] Becher M, Talke IN, Krall L, Kramer U. Cross-species microarray transcript profiling reveals high constitutive expression of metal homeostasis genes in shoots of the zinc hyperaccumulator *Arabidopsis halleri*. *Plant J*, 2004, 37(2): 251–268.
- [42] Weber M, Harada E, Vess C, Roepfenack-Lahaye E, Clemens S. Comparative microarray analysis of *Arabidopsis thaliana* and *Arabidopsis halleri* roots identifies nicotianamine

- synthase, a ZIP transporter and other genes as potential metal hyperaccumulation factors. *Plant J*, 2004, 37(2): 269–281.
- [43] Van de Mortel JE, Almar VL, Schat H, Kwekkeboom J, Coughlan S, Moerland PD, van Themaat EVL, Koornneef M, Aarts MGM. Large expression differences in genes for iron and zinc homeostasis, stress response, and lignin biosynthesis distinguish roots of *Arabidopsis thaliana* and the related metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant Physiol*, 2006, 142(3): 1127–1147.
- [44] Chandran D, Sharopova N, Ivashuta S, Gantt JS, Vandenbosch KA, Samac DA. Transcriptome profiling identified novel genes associated with aluminum toxicity, resistance and tolerance in *Medicago truncatula*. *Planta*, 2008, 228(1): 151–166.
- [45] Abercrombie JM, Halfhill MD, Ranjan P, Rao MR, Saxton AM, Yuan JS, Stewart CN Jr. Transcriptional responses of *Arabidopsis thaliana* plants to As (V) stress. *BMC Plant Biol*, 2008, 8: 87.
- [46] Guo PG, Bai GH, Carver B, Li RH, Bernardo A, Baum M. Transcriptional analysis between two wheat near-isogenic lines contrasting in aluminum tolerance under aluminum stress. *Mol Genet Genomics*, 2007, 277(1): 1–12.
- [47] Houde M, Diallo AO. Identification of genes and pathways associated with aluminum stress and tolerance using transcriptome profiling of wheat near-isogenic lines. *BMC Genomics*, 2008, 9: 400.
- [48] Puthoff DP, Nettleton D, Rodermel SR, Baum TJ. *Arabidopsis* gene expression changes during cyst nematode parasitism revealed by statistical analyses of microarray expression profiles. *Plant J*, 2003, 33(5): 911–921.
- [49] Vos M, van Oosten VR, van Poecke RMP, van Pelt JA, Pozo MJ, Mueller MJ, Buchala AJ, Métraux JP, van Loon C, Dicke M, Pieterse CMJ. Signal signature and transcriptome changes of *Arabidopsis* during pathogen and insect attack. *Mol Plant Microbe Interact*, 2005, 18(9): 923–937.
- [50] Fabro G, Di Rienzo JA, Voigt CA, Savchenko T, Dehesh K, Somerville S, Alvarez ME. Genome-wide expression profiling *Arabidopsis* at the stage of *Golovinomyces cichoracearum* haustorium formation. *Plant Physiol*, 2008, 146(3): 1421–1439.
- [51] Schenk PM, Kazan K, Wilson I, Anderson JP, Richmond T, Somerville SC, Manners JM.

- Coordinated plant defense responses in *Arabidopsis* revealed by microarray analysis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(21): 11655–11660.
- [52] Rinaldi C, Kohler A, Frey P, Duchaussoy F, Ningre N, Couloux A, Wincker P, Thiec DL, Fluch S, Martin F, Duplessis S. Transcript profiling of poplar leaves upon infection with compatible and incompatible strains of the foliar rust *Melampsora larici-populina*. *Plant Physiol*, 2007, 144(1): 347–366.
- [53] Ascencio-Ibáñez JT, Sozzani R, Lee TJ, Chu TM, Wolfinger RD, Cella R, Hanley-Bowdoin L. Global analysis of *Arabidopsis* gene expression uncovers a complex array of changes impacting pathogen response and cell cycle during geminivirus infection. *Plant Physiol*, 2008, 148(1): 436–454.
- [54] Thompson GA, Goggin FL. Goggin. Transcriptomics and functional genomics of plant defence induction by phloem-feeding insects. *J Exp Bot*, 2006, 57(4): 755–766.
- [55] Kempema LA, Cui X, Holzer FM, Walling LL. *Arabidopsis* transcriptome changes in response to phloem-feeding silverleaf whitefly nymphs. Similarities and distinctions in responses to aphids. *Plant Physiol*, 2007, 143(2): 849–865.
- [56] Jiang YQ, Deyholos MK. Comprehensive transcriptional profiling of NaCl-stressed *Arabidopsis* roots reveals novel classes of responsive genes. *BMC Plant Biol*, 2006, 6: 25.
- [57] Zhou JL, Wang XF, Jiao YL, Qin YH, Liu XG, He K, Chen C, Ma LG, Wang J, Xiong LZ, Zhang QF, Fan LM, Deng XW. Global genome expression analysis of rice in response to drought and high-salinity stresses in shoot, flag leaf, and panicle. *Plant Mol Biol*, 2007, 63(5): 591–608.
- [58] Kawasaki SJ, Borchert C, Deyholos M, Wang H, Brazille S, Kawai K, Galbraith D, Bohnert HJ. Gene expression profiles during the initial phase of salt stress in rice. *Plant Cell*, 2001, 13(4): 889–905.
- [59] Taji T, Seki M, Satou M, Sakurai T, Kobayashi M, Ishiyama K, Narusaka Y, Narusaka M, Zhu JK, Shinozaki K. Comparative genomics in salt tolerance between *Arabidopsis* and *Arabidopsis*-related halophyte salt Cress using *Arabidopsis* microarray. *Plant Physiol*, 2004, 135(3): 1697–1709.
- [60] Walia H, Wilson C, Condamine P, Liu X, Ismail AM, Zeng LH, Wanamaker SI, Mandal J, Xu J, Cui XP, Close TJ. Comparative transcriptional profiling of two contrasting rice

- genotypes under salinity stress during the vegetative growth stage. *Plant Physiol*, 2005, 139(2): 822–835.
- [61] Ueda A, Kathiresan A, Bennett J, Takabe T. Comparative transcriptome analyses of barley and rice under salt stress. *Theor Appl Genet*, 2006, 112(7): 1286–1294.
- [62] Ozturk ZN, TalamelV, Deyholos M, Michalowski1 CB, Galbraith DW, Gozukirmizi N, Tuberosa R, Bohnert HJ. Monitoring large-scale changes in transcript abundance in drought- and salt-stressed barley. *Plant Mol Biol*, 2002, 48(5-6): 551–573.
- [63] Oono Y, Seki1 M, Nanjo T, Narusaka M, Fujita M, Satoh R, Satou M, Sakurai T, Ishida J, Akiyama K, Iida K, Maruyama K, Satoh S, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K. Monitoring expression profiles of *Arabidopsis* gene expression during rehydration process after dehydration using ca. 7000 full-length cDNA microarray. *Plant J*, 2003, 34(6): 868–887.
- [64] Roche J, Hewezi T, Bouniols A, Gentzbittel L. Transcriptional profiles of primary metabolism and signal transduction-related genes in response to water stress in field-grown sunflower genotypes using a thematic cDNA microarray. *Planta*, 2007, 226(3): 601–617.
- [65] Seki M, Narusaka M, Abe H, Kasuga M, Yamaguchi-Shinozaki K, Carninci P, Hayashizaki Y, Shinozaki K. Monitoring the expression pattern of 1300 *Arabidopsis* genes under drought and cold stresses by using a full-length cDNA microarray. *Plant Cell*, 2001, 13(1):61–72.
- [66] Thomashow MF. Plant cold acclimation, freezing tolerance genes and regulatory mechanisms. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1999, 50: 571–599.
- [67] Fowler S, Thomashow MF. *Arabidopsis* transcriptome profiling indicates that multiple regulatory pathways are activated during cold acclimation in addition to the CBF cold response pathway. *Plant Cell*, 2002, 14(8): 1675–1690.
- [68] Yamaguchi T, Nakayama K, Hayashi T, Yazaki J, Kishimoto N, Kikuchi S, Koike S. cDNA microarray analysis of rice anther genes under chilling stress at the microsporogenesis stage revealed two genes with DNA transposon castaway in 5'-flanking region. *Biosci Biotechnol, Biochem*, 2004, 68(6): 1315–1323.
- [69] Dhanaraj AL, Alkharouf NW, Beard HS, Chouikha IB, Matthews BF, Wei H, Arora R, Rowland LJ. Major differences observed in transcript profiles of blueberry during cold acclimation under field and cold room conditions. *Planta*, 2007, 225(3): 735–751.

- [70] Kaplan F, Kopka J, Sung DY, Zhao Wei, Popp M, Porat Ron, Guy CL. Transcript and metabolite profiling during cold acclimation of *Arabidopsis* reveals an intricate relationship of cold-regulated gene expression with modifications in metabolite content. *Plant J*, 2007, 50(6): 967–981.
- [71] Aukerman MJ, Sakai H. Regulation of flowering time and floral organ identity by a microRNA and its APETALA2-like target genes. *Plant Cell*, 2003, 15(11): 2730–2741.
- [72] Fujii H, Chiou TJ, Lin SI, Aung K, Zhu JK. A miRNA involved in phosphate-starvation response in *Arabidopsis*. *Curr Biol*, 2005, 15(22): 2038–2043.
- [73] Qu J, Ye Jian, Fang RX. Artificial microRNA-mediated virus resistance in plants. *J Virol*, 2007, 81(12): 6690–6699.
- [74] Zhou XF, Wang GD, Zhang WX. UV-B responsive mi-croRNA genes in *Arabidopsis thaliana*. *Mol Syst Biol*, 2007, 3(103): 1-10.
- [75] Liu HH, Tian X, Li YJ, Wu CA, Zheng CC. Microarray-based analysis of stress-regulated microRNAs in *Arabidopsis thaliana*. *RNA*, 2008, 14(5): 836–843.
- [76] Seki M, Ishida J, Narusaka M, Fujita M, Nanjo T, Umezawa T, Kamiya A, Nakajima M, Enju A, Sakurai T, Satou M, Akiyama K, Yamaguchi-Shinozaki K, Carninci P, Kawai J, Hayashizaki Y, Shinozaki K, Monitoring the expression pattern of around 7,000 *Arabidopsis* genes under ABA treatments using a full-length cDNA microarray. *Funct Integr Genomics*, 2002, 2(6): 282–291.
- [77] Gonzali S, Loreti E, Novi G, Poggi A, Alpi A, Perata P. The use of microarrays to study the anaerobic response in *Arabidopsis*. *Ann Bot*, 2005, 96(4): 661–688
- [78] Batista R, Saibo N, Lourenc T, Oliveira MM. Microarray analyses reveal that plant mutagenesis may induce more transcriptomic changes than transgene insertion. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(9): 3640–3645.