

珠美海棠 *MzWRKY* 基因家族盐胁迫应答模式研究

蒋阿维, 张素维, 孙杨吾, 褚欣然, 赵宇, 许雪峰, 孔瑾*

(中国农业大学农学与生物技术学院, 北京市果树逆境生理与分子生物学实验室, 北京 100193)

摘要: 对苹果属植物现有的 58 个 *WRKY* 的 EST 序列进行分析, 得到了 37 条 uniESTs。珠美海棠 (*Malus zumi* Mats) 是耐盐的优良苹果砧木, 能在土壤全盐含量为 0.6% 的盐碱地上存活。根据已知的 37 条 uniESTs 序列, 通过半定量 RT-PCR 研究了珠美海棠中 *MzWRKY* 基因家族的盐应答模式。28 个 *MzWRKY* 基因能检测到 RT-PCR 的产物, 其中 21 个基因受盐诱导, 1 个受盐抑制。根据 *MzWRKY* 基因盐应答模式可将这些基因分为两组, 基因表达模式的差异说明 *MzWRKY* 在珠美海棠的盐应答中角色的多样性。

关键词: 珠美海棠; *WRKY* 转录因子; 盐胁迫; 半定量 RT-PCR

中图分类号: S 661

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2010) 08-1213-07

Expression Analysis of *WRKY* Family in Response to Salt Stress in *Malus zumi* Mats

JIANG A-wei, ZHANG Su-wei, SUN Yang-wu, CHU Xin-ran, ZHAO Yu, XU Xue-feng, and KONG Jin*

(Laboratory of Stress Physiology and Molecular Biology for Fruit Tree, College of Agriculture and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: Sequence assembly from 58 *Malus WRKY* ESTs resulted in 37 uniESTs. *Malus zumi* Mats is a salt-tolerant rootstock of apple, which could survive in 0.6% total salt content of land. Primers were designed in *M. zumi* Mats according to the 37 uniESTs, semi-quantitative RT-PCR was applied to reveal the expression patterns of *MzWRKY* gene family in response to salt stress. RT-PCR products of 28 *MzWRKY* genes were detectable, 21 *MzWRKYs* were up-regulated and 1 *MzWRKY* was down regulated under salt stress. According to the peak hour, the *MzWRKYs* were classified into 2 groups. The different expression patterns of *MzWRKY* genes suggested that *WRKY* proteins play various roles in response to salt stress in *M. zumi* Mats.

Key words: *Malus zumi* Mats; *WRKY* transcription factor; salt stress; semi-quantitative RT-PCR

WRKY 转录因子因其家族成员均含有保守的 *WRKYGQK* 七肽而得名。1994 年在甘薯中克隆了第一个 *WRKY* (SPF1) 转录因子, 并发现 SPF1 参与甘薯糖信号途径 (Ishiguro & Nakamura, 1994)。 *WRKY* 在拟南芥、水稻、杨树中分别有 74、109 和 104 个成员 (Pandey & Somssich, 2009)。 该家

收稿日期: 2010-03-29; 修回日期: 2010-05-05

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30600416); 北京市自然科学基金项目 (5072027); 中央高校基本科研业务费专项 (2009-2-06)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: jkong1973@yahoo.com.cn)

族成员都含有 1 ~ 2 个保守的 WRKY 结构域, 由约 60 个氨基酸残基组成, 包括一个高度保守的 WRKYGQK 七肽和一个锌指结构 (C2H2 或 C2HC)。此外部分 WRKY 还含有亮氨酸拉链、丝氨酸—苏氨酸富集区、谷氨酸富集区、脯氨酸富集区等转录因子中常见的氨基酸结构域, 少部分 WRKY 还含有病原体抗性基因所具有的 TIR (Toll-like receptor)、NBS (Nucleotide binding site)、LRR (Leucine-rich repeat) 结构 (Jebanathirajah & Pandey, 2002)。WRKY 通过特异结合靶基因启动子中的 W 盒 (T)(T)TGAC (C/T), 来调控靶基因的转录水平, 参与植物对生物及非生物胁迫的应答, 调控植物生长发育、形态建成及多种代谢途径, 行使其生物学功能。

近年来的研究表明, WRKY 参与植物对盐胁迫的响应, 如在拟南芥 (Jiang & Deyholos, 2009)、*Larrea tridentata* (Zou et al., 2007)、水稻 (Qiu et al., 2004)、番茄 (Zhou et al., 2007)、小麦 (Kawaura et al., 2008)、大豆 (Zhou et al., 2008)、遏蓝菜 (Wei et al., 2008) 等多个物种中发现 WRKY 参与盐胁迫应答反应; 在水稻中超表达 *OsiWRKY* (李南羿和郭泽建, 2006)、在拟南芥中超表达 *GmWRKY45* (Zhou et al., 2008) 和 *OsWRKY45* (Qiu & Yu, 2009) 等均能提高转基因植株的耐盐性。

珠美海棠 (*Malus zumi* Mats) 能在土壤全盐含量为 0.6% ($100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的盐碱地上生长 (顾迺良等, 1996), 是一种耐盐性很强的优良苹果砧木。但其耐盐机理的分子生物学研究很少有报道, 只有珠美海棠盐胁迫下微阵列 (microarray) 研究的初步报道 (刘佳等, 2009)。目前数据库中无珠美海棠 *MzWRKY* 基因序列信息。对苹果属植物现有 WRKY 的 EST 序列进行序列比对分析, 通过半定量 RT-PCR 分析珠美海棠 *MzWRKY* 基因家族的盐胁迫应答模式。本文首次报道 WRKY 在乔木珠美海棠中参与盐应答。

1 材料与方法

1.1 材料培养与处理

试验于 2008—2009 年在中国农业大学进行。珠美海棠 (*M. zumi* Mats) 组培苗在生长培养基 ($\text{MS} + 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{BA} + 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{IBA}$) 上生长到茎木质化后转移至生根培养基 ($1/2\text{MS} + 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{IBA}$), 待根长 3 ~ 4 cm 后转移到半营养液中, 2 周后移入完全营养液。日光灯恒定光源, 光强 1500 lx, 光照 $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$, 温度 $24 \sim 28^\circ\text{C}$ 。苗高 5 ~ 6 cm 时用 $150 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaCl}$ 进行胁迫处理, 处理 0、1、2、4、8、12 和 24 h 后分别收集根与叶, 液氮速冻后置于 -80°C 冰箱保存备用。

1.2 RNA提取和cDNA合成

采用 CTAB 法提取植物 RNA, 经 DNase I 消化去除 DNA。取 $0.5 \mu\text{L}$ RNA, 通过 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性; 取 $1 \mu\text{L}$ RNA 用 UnicPC-2102 型紫外分光光度计测定 260、280 nm 的光密度值, 计算 $\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$ 的比值, 估算 RNA 的纯度, 并通过 OD_{260} 的值计算每个样 RNA 含量。每个样品取 $4 \mu\text{g}$ RNA, 按照 Promega M-MLV 说明书合成单链 cDNA, 于 -20°C 保存。

1.3 EST分析及引物合成

从 NCBI EST 库中 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 搜索苹果属植物 WRKY 的 EST 序列, 用 DNAMAN 软件进行序列拼接, 得到的 uniESTs 在 NCBI blast (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) 中进行同源比对, 根据 uniESTs 序列, 用 Primer Premier 5 在推测的不同外显子区设计基因特异引物 (表 1)。

1.4 珠美海棠 *MzWRKY* 基因的半定量 RT-PCR

半定量 RT-PCR 以单链 cDNA 为模板,引物为 *MzWRKY* 基因特异引物(表 1)及内参 *MzACTIN* 引物(上游引物 5'-CAATGTGCCTGCCATGTATG-3';下游引物 5'-CCAGCAGCTTCCATTCCAAT-3'),同时以 DNA 为模板扩增各 *MzWRKY* 基因作为阳性对照。根据引物 T_m 值和基因丰度差异,扩增各 *MzWRKY* 基因退火温度 53 ~ 57 ,产物长度 300 ~ 500 bp,循环数 26 ~ 40 圈(表 1),扩增 *MzACTIN* 用 27 个循环。PCR 体系为:2 × PCR Mix 5 μ L,正、反向引物($10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)各 0.5 μ L,cDNA 0.4 ~ 0.9 μ L,加 ddH₂O 至 10 μ L。PCR 程序为:94 3 min; 94 30 s, 53 ~ 58 30 s, 72 30 s, 27 ~ 40 个循环;72 10 min。取 4 μ L PCR 产物经 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测。

1.5 珠美海棠 *MzWRKY* 基因盐应答模式分析

用 Gel-Pro analyzer 凝胶定量分析软件读取 RT-PCR 产物电泳条带的光密度值,根据基因 RT-PCR 产物与同批 *MzACTIN* 的光密度比值,计算各基因的转录值。对基因转录值提高 1 倍以上或降低 1/2 以下的基因,按基因表达峰值出现的时间分类。

2 结果与分析

2.1 苹果 EST 序列分析

在 NCBI 上检索得到的 58 条苹果属植物的 *WRKY* EST 序列,经 DNAMAN 软件进行拼接后,得到 37 个 uniESTs,包括 12 个 contigs 和 25 个 singlets。根据后期基因盐应答模式的研究,对 37 个 uniESTs 进行命名(表 1)。

在 NCBI blast 中进行序列相似性比对发现,16 个 *MzWRKY* 基因含有编码 *WRKY* 结构域的基序:*MzWRKY3*、*MzWRKY9*、*MzWRKY11*、*MzWRKY12*、*MzWRKY13*、*MzWRKY15*、*MzWRKY16*、*MzWRKY17*、*MzWRKY18*、*MzWRKY21*、*MzWRKY22*、*MzWRKY23*、*MzWRKY24*、*MzWRKY28*、*MzWRKY29*、*MzWRKY30*;15 个 *MzWRKY* 基因通过同源比对,在同源基因中能找到编码 *WRKY* 结构域的基序:*MzWRKY1*、*MzWRKY2*、*MzWRKY4*、*MzWRKY6*、*MzWRKY7*、*MzWRKY10*、*MzWRKY19*、*MzWRKY20*、*MzWRKY25*、*MzWRKY26*、*MzWRKY27*、*MzWRKY31*、*MzWRKY32*、*MzWRKY33*、*MzWRKY34*;6 个 *MzWRKY* 基因含有编码 LRR 的基序,与 TIR-NBS-LRR 基因的同源性高,其中 *MzWRKY5*、*MzWRKY8*、*MzWRKY35*、*MzWRKY36*、*MzWRKY37* 与 *AtWRKY19*、*MzWRKY14* 与 *AtWRKY52* 有一定相似性。

表 1 扩增珠美海棠 *MzWRKY* 基因的引物序列及扩增条件
Table 1 Primer sequences and PCR parameters of *MzWRKY* cDNA fragments amplification

基因 Gene	登录号 Accession No.	上游引物 5'-3' Forward primer	下游引物 5'-3' Reverse primer	退火温度/ Anneal temperature	循环数 Cycles
<i>MzWRKY1</i>	GO502058	AGGCAATGTTTCTGGTGAGG	GCCTGGTGCTGAAGATTG	55	36
<i>MzWRKY2</i>	GO561746 , DT040989	TGACTCCTTCTCCTACCTCCTC	AAGCATTCTTTCAGCCTCT	53	34
<i>MzWRKY3</i>	DT002302	GAATGGGATTGAAGGACC	CTTGAGACTGCTGTTGTTGA	55	31
<i>MzWRKY4</i>	DT002887	CCGACGAGATTCCGACCAAC	GCCATCGGTAGCCATCATCT	55	30
<i>MzWRKY5</i>	GO547781	CCTTGCCTAATTGTTGTCTT	TAATGGCTGTTGGAGACTTG	51	32
<i>MzWRKY6</i>	GO500903	GAAGTGGATGATGCCAAAGC	ATCGTCTTCGCGTCTTA	53	40
<i>MzWRKY7</i>	GO546566	CACGATACTCGTTTGAATGAC	CTAGTGCGTCTGGTTCCA	53	30
<i>MzWRKY8</i>	GO525780	GCCTTAGGACAACCTCTGAT	ATGCCCACTCCCTCCAAG	55	30

续表 1

基因 Gene	登录号 Accession No.	上游引物 5'–3' Forward primer	下游引物 5'–3' Reverse primer	退火温度/ Anneal temperature	循环数 Cycles
<i>MzWRKY9</i>	GO498871,DT04 3808,DR992119	GTTGTTTCAGCAGGCTACGAT	CTCTTGGAGCAATGGCACT	55	30
<i>MzWRKY10</i>	EZ878972	TGCTGCTACTGACAAATGG	CCTGTGGGCTGTTGTTG	57	30
<i>MzWRKY11</i>	CV627700 , CO723222	GGCAACTTCAGGTCAGTAGAG	GCACCTTCAACTGAGCAC	57	36
<i>MzWRKY12</i>	FE969653	TGCATCGGTGCGAACATA	CCGTGCCAATGATAGTCG	53	28
<i>MzWRKY13</i>	GO499623	AACCCTGAAACCACTGC	CCACTTCTTGCTTCCGTCA	57	34
<i>MzWRKY14</i>	GO517111	GGATGGGTGTTACCGTGAT	GCAGAGGGAAGTCAGACATAC	57	33
<i>MzWRKY15</i>	DR998023, DR993009, DR990752	CTGAGACAGAAGAGGGTTG	CCGAGTCAGTCCGAGTT	55	34
<i>MzWRKY16</i>	GO530901,GO53 1040,GO526785 , DT043192	ATGGTTGCCTCGGTTGAT	AGTGGAGGTGCAACGTATG	51	36
<i>MzWRKY17</i>	GO516755 , GO565343 , GO539764	AACGAACCTGAGGCGAAAAG	AATGGTTAGGCAATGGCAAG	53	30
<i>MzWRKY18</i>	GO535736	CATGACAAAGAGCGAAGTTG	AAGGCGAAGAGGAGTTGTTA	55	30
<i>MzWRKY19</i>	GO512183	AGCAGAACCAGCACCAAG	GGTCAACGACGACATAAACG	55	30
<i>MzWRKY20</i>	GO544291	CCCTGCCTCACTATCCCT	TTAGCCAAAGTTGGTGATGC	55	30
<i>MzWRKY21</i>	GO557531, GO514603	ATGCCCAGGTGGACTAAG	ATGGCACGGTGACACTGT	57	28
<i>MzWRKY22</i>	DT002891	CCACAGCCAATACTGATAGG	TTGGAGGTTGAGGCTTCG	55	35
<i>MzWRKY23</i>	GO520175,GO53 5081,GO538119, GO555359	GCTGGTTTCATCCCGAAAGAG	TGCAGGCGCAGAATGGTAC	57	30
<i>MzWRKY24</i>	GO546794, EZ878974 , DT040936 , DR999455	AACAGATTATGAGCGACCAGG	CGGCAGCGGGATTGA	55	33
<i>MzWRKY25</i>	GO562085	CGACTCTTCGGATTCTCA	TTTCCGTTTCACCTTCCA	51	33
<i>MzWRKY26</i>	GO556310,GO52 1230	ATAGCCGCTCCGATTGT	CATGAGAGGTTGTCCAGCAA	53	30
<i>MzWRKY27</i>	GO546748	GTTTCACTGCCATCAGCCTA	CGCTCCTGTTTCCATGAAC	55	30
<i>MzWRKY28</i>	GO577517, GO577505	TCCTGAAGACGGGGTATAAC	AGCTTCCCATCTGATGAGAA	55	40
<i>MzWRKY29</i>	DT043766	CAGGCTTTTGAATCTTTACAT	ATTGATGGTGTCTGTGGTT	53	40
<i>MzWRKY30</i>	DT002743	TAATCCTGTCCACCAACGA	GCTGTGCTTGACAGCTTCTC	55	40
<i>MzWRKY31</i>	GO528515, GO562085	TTCCACATGTAAAGCGATCA	TGCACCGTGATATTGACA	51	40
<i>MzWRKY32</i>	GO565958	TCTGCTCCGTGGACTTTC	TCTGCTCCGTGGACTTTC	55	40
<i>MzWRKY33</i>	GO509807	CCGCACTCGACCAACCTT	CCTTATCTGCCCATTGTTTG	55	40
<i>MzWRKY34</i>	GO502176	AACCACCCAAGGATACCA	CCATCTGTGACTTGGCTTCT	53	40
<i>MzWRKY35</i>	GO567554	GCTTTCAACAGCTTTCGTAAC	GCTTTGATGGATTAGATGGT	51	40
<i>MzWRKY36</i>	GO518865	CTCCGTGAACGAGGTCTTG	CACGCCAGCACAACCATA	55	40
<i>MzWRKY37</i>	GO500060	ATGAGCCAGGTGGTCGTA	TGCTATGCCGCAGACTAA	53	40

2.2 珠美海棠 *MzWRKY* 基因的半定量 RT-PCR

37 个 *MzWRKY* 基因的阳性对照 (总 DNA) 均能得到扩增, 28 个能在 cDNA 中得到扩增。编号 28~37 的 9 个基因未能在 cDNA 中得到扩增, 推测它们的转录水平很低, 其表达也不受盐胁迫诱导。

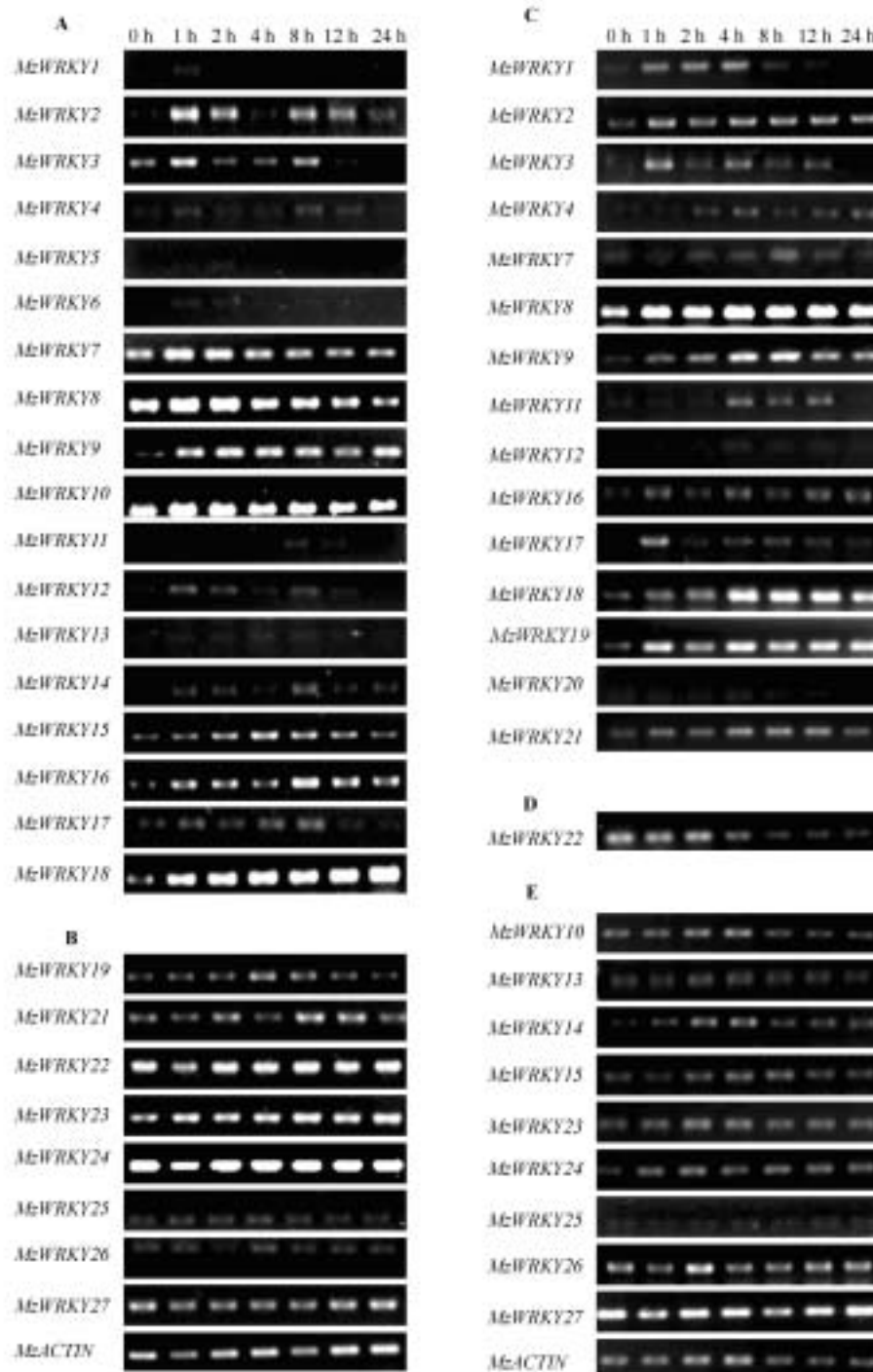


图 1 不同盐处理时间下珠美海棠 *MzWRKY* 基因的表达分析

A: 根中受盐胁迫诱导; B: 根中不对盐胁迫应答; C: 叶中受盐胁迫诱导; D: 叶中受盐胁迫抑制; E: 叶中不对盐胁迫应答。

Fig. 1 Expression analysis of *MzWRKY* genes under salt treatments in *M. zumi* Mats

A: Induced by salt stress in root; B: Not response to salt stress in root; C: Induced by salt stress in leaves; D: Down-regulated by salt stress in leaves; E: Not response to salt stress in leaves.

3 个基因的表达具有组织特异性： $MzWRKY5$ 及 $MzWRKY6$ 仅在根中表达， $MzWRKY20$ 仅在叶中表达。根中扩增得到 26 个 $MzWRKY$ 基因， $MzWRKY1 \sim MzWRKY18$ 等共 18 个基因受盐胁迫诱导（图 1，A）， $MzWRKY19 \sim MzWRKY27$ 等共 8 个基因的表达无明显变化（图 1，B）；叶片中扩增得到 25 个 $MzWRKY$ 中，15 个基因的表达受盐胁迫诱导（图 1，C），1 个基因受盐胁迫抑制（图 1，D），9 个基因的表达无明显变化（图 1，E）。

2.3 珠美海棠 $MzWRKY$ 基因盐胁迫应答模式分析

根据盐胁迫下在根和叶中转录峰值最先出现的时间，将盐应答 $MzWRKY$ 基因分成两组。第一组基因在根或叶中的表达峰值出现在盐胁迫后 1 h，有 6 个基因： $MzWRKY1$ 、 $MzWRKY2$ 、 $MzWRKY3$ 、 $MzWRKY4$ 、 $MzWRKY17$ 、 $MzWRKY19$ 。第二组基因在根或叶中的表达峰值出现在盐胁迫下 1 h 以后，表达峰值出现的时间分别为 2 h（ $MzWRKY5 \sim MzWRKY8$ ），4 h（ $MzWRKY9$ 、 $MzWRKY10$ 、 $MzWRKY16$ 、 $MzWRKY20$ ），8 h（ $MzWRKY11$ 、 $MzWRKY12$ 、 $MzWRKY13$ 、 $MzWRKY14$ 、 $MzWRKY15$ 、 $MzWRKY18$ 、 $MzWRKY21$ 、 $MzWRKY22$ ）。

3 讨论

近年研究表明 WRKY 转录因子参与草本植物和灌木中盐应答反应。Jiang 和 Deyholos (2006) 发现盐胁迫下拟南芥根组织中的 35 个 WRKY 中有 18 个基因受盐诱导；Qiu 等 (2004) 研究水稻的 13 个 WRKY 基因有 9 个基因的应答 NaCl 处理；盐胁迫下大豆 64 个 WRKY 基因中 22 个基因表达有差异（Zhou et al., 2008）；所研究的小麦 48 个 WRKY 基因中，有 23 个基因的表达发生变化（Kawaura et al., 2008）。在木本植物中虽然分离了部分 WRKY 基因，但是仅在灌木 *Larrea tridentata* 中有 WRKY 参与盐应答的报道（Zou et al., 2007）。本文首次报道在乔木中研究 WRKY 与盐应答的关系，发现有 81% $MzWRKY$ 基因参与盐应答，这个数据远远高于草本植物，表明 WRKY 在乔木珠美海棠中可能更广泛地参与盐应答。WRKY 是个超级转录因子家族，珠美海棠也可能拥有庞大的 $MzWRKY$ 基因数目，目前获得的基因数量不多，这个推测还需进一步的数据支持。

基因表达模式的差异往往与基因的功能及参与盐胁迫应答的方式相关，所以研究 $MzWRKY$ 基因盐胁迫下的表达模式对了解 $MzWRKY$ 基因在盐胁迫应答过程中的功能至关重要。本研究发现，盐胁迫下，21 个 $MzWRKY$ 基因的表达受盐胁迫诱导，1 个受盐胁迫抑制。这些应答盐胁迫的 $MzWRKY$ 基因中，有 6 个基因的表达峰值出现在盐处理后 1 h，这些基因可能在 $MzWRKY$ 盐胁迫调控途径的上游发挥作用，参与盐胁迫的早期应答；16 个基因表达峰值的出现晚于 1 h，这些基因可能通过调控下游功能基因参与盐胁迫。 $MzWRKY$ 基因盐胁迫的应答模式的差异，说明 $MzWRKY$ 在珠美海棠盐应答过程中角色的多样性。

本研究在珠美海棠中， $MzWRKY$ 可能广泛地参与盐应答的调控。对 $MzWRKY$ 基因的进一步的深入研究将为揭示珠美海棠的盐应答机理奠定基础。

References

- Gu You-liang, Zhao Hui-xiang, Ma Ji-long, Zhou Shao-wu. 1996. The adaption and application area on the salinity for *Malus zumi* Mats. Journal of Tianjin Agriculture College, 3 (3): 48–52. (in Chinese)
- 顾迺良, 赵惠祥, 马继龙, 周绍武. 1996. 珠美海棠对盐碱地适应范围及应用. 天津农学院学报, 3 (3): 48–52.
- Ishiguro S, Nakamura K. 1994. Characterization of a cDNA encoding a novel DNA-binding protein, SPF1, that recognizes SP8 sequences in the 5' upstream regions of genes coding for sporamin and β -amylase from sweet potato. Molecular and General Genetics, 244 (6): 563–571.

- Jebanathirajah J A , Pandey A. 2002. Toll and interleukin-1 receptor (TIR) domain-containing proteins in plants : A genomic perspective. Trends in Plant Science , 7 (9): 388 – 391.
- Jiang Y , Deyholos M K. 2006. Comprehensive transcriptional profiling of NaCl-stressed *Arabidopsis* roots reveals novel classes of responsive genes. BMC Plant Biology , 6 : 25.
- Jiang Y , Deyholos M K. 2009. Functional characterization of *Arabidopsis* NaCl-inducible WRKY25 and WRKY33 transcription factors in abiotic stresses. Plant Molecular Biology , 69 : 91 – 105.
- Kawaura K , Mochida K , Ogiwara Y. 2008. Genome-wide analysis for identification of salt-responsive genes in common wheat. Functional & Integrative Genomics , 8 : 277 – 286.
- Li Nan-yi , Guo Ze-jian. 2006. Overexpression of two different transcription factors , *OPBP1* and *OsiWRKY* , enhances resistance against pathogen attack and salt stress in rice. Chinese Rice Science , 20 (1): 13 – 18. (in Chinese)
- 李南羿 , 郭泽建. 2006. 转录因子 *OPBP1* 和 *OsiWRKY* 基因的超表达提高水稻的耐盐及抗病能力. 中国水稻科学 , 20 (1): 13 – 18.
- Liu Jia , Li Qing-tian , Kong Jin , Xu Xue-feng , Han Zhen-Hai. 2009. Microarray analysis of salt-stress responsive genes in *Malus zumi* Mats. Journal of China Agricultural University , 14 (5): 61 – 67. (in Chinese)
- 刘 佳 , 李擎天 , 孔 瑾 , 许雪峰 , 韩振海. 2009. 苹果砧木珠美海棠盐胁迫应答基因的微阵列研究. 中国农业大学学报 , 14 (5): 61 – 67.
- Pandey S P , Somssich I E. 2009. The role of WRKY transcription factors in plant immunity. Plant Physiology , 150 : 1648 – 1655.
- Qiu Yu-ping , Jing Shao-juan , Fu Jian , Li Lu , Yu Di-qiu. 2004. Cloning and analysis of expression profile of 13 *WRKY* genes in rice. Chinese Science Bulletin , 48 (20): 2159 – 2188.
- Qiu Yu-ping , Yu Di-qiu. 2009. Over-expression of the stress-induced *OsWRKY45* enhances disease resistance and drought tolerance in *Arabidopsis*. Environmental and Experimental Botany , 65 : 35 – 47.
- Wei Wei , Zhang Yu-xiu , Lu Han , Guan Zi-qiu , Chai Tuao-yao. 2008. A novel WRKY transcriptional factor from *Thlaspi caerulescens* negatively regulates the osmotic stress tolerance of transgenic tobacco. Plant Cell Reports , 27 : 795 – 803.
- Zhou Qi-yun , Tian Ai-guo , Zou Hong-feng , Xie Zhong-ming , Lei Gang , Huang Jian , Wang Chun-mei , Wang Hui-wen , Zhang Jin-song , Chen Shou-yi. 2008. Soybean WRKY-type transcription factor genes , *GmWRKY13* , *GmWRKY21* , and *GmWRKY54* , confer differential tolerance to abiotic stresses in transgenic *Arabidopsis* plants. Plant Biotechnology Journal , 6 : 486 – 503.
- Zhou Su-ping , Wei Shu , Boone B. 2007. Microarray analysis of genes affected by salt stress in tomato. African Journal of Environmental Science and Technology , 1 (2): 14 – 26.
- Zou Xiao-lu , Shen Q J , Neuman D. 2007. An ABA inducible *WRKY* gene integrates responses of creosote bush (*Larrea tridentata*) to elevated CO₂ and abiotic stresses. Plant Science , 172 : 997 – 1004.