

番茄抗病信号激素的芯片表达谱分析

许瑞瑞

(潍坊学院 生物与农业工程学院,“十三五”山东省高校生物化学与分子生物学重点实验室,山东 潍坊 261061)

摘要:以番茄为试材,采用 Aglient 芯片和实时荧光定量 PCR 技术,研究了乙烯、茉莉酸甲酯和水杨酸 3 种激素处理后番茄中差异表达明显基因尤其是抗病相关基因,以期为进一步研究抗病信号激素响应和信号通路之间的协同作用提供参考依据。结果表明:分别用 ET、MeJA 和 SA 处理番茄幼苗后,筛选确定 2 261、8 302 和 9 479 个差异表达基因。GO 分析表明,差异表达基因多与激素和防御反应、发育过程、信号转导、蛋白质代谢途径相关。其中经 3 种激素处理后,检测分别有 178 和 598 个共同上调和下调的差异表达基因;其中 481 个是已知或预测功能的基因。通过实时荧光定量 PCR 技术验证了 10 个差异表达基因的表达情况,结果与芯片数据趋势一致。

关键词:番茄;芯片分析;激素;抗病性;表达分析

中图分类号:S 641.203.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2018)02-0001-08

番茄(*Solanum lycopersicum*)是重要的经济作物和蔬菜作物,科学家们对番茄的研究也越来越深入。然而,由于虫害和病原体引起的各种病害使世界各地的番茄产量和质量大大下降,对农民造成重大的经济损失^[1-2]。乙烯(ET)、茉莉酸(JA)和水杨酸(SA)是典型的植物激素,可以调节拟南芥和水稻等响应虫害和病原体引起的植物免疫反应。研究表明,乙烯可以与其它信号转导分子共同调节植物对病原体的抗性和易感性,促进植株衰老或成熟,介导病原体感染过程^[3-5];JA 可调节由昆虫和病原体引起的植物免疫应答反应^[6];SA 参与建立基础防御和通过在 JA 和生长素信号通路中产生拮抗作用而激活植物防御反应^[5,7-8]。SA 激素可以诱导一系列防御基因如病程相关蛋白(PR)基因等的表达而起到参与调控

植物抗病反应的作用^[9]。

SA、JA 和 ET 激素之间的相互作用是植物中较适用的抗病防御机制,其信号通路相互作用时还有很多信号分子共同参与,包括转录调节因子 MAPK4、病程相关基因非表达因子(NPR1)、茉莉酮酸酯 ZIM 结构域蛋白(JAZ)、WRKY70、COR1、VSP1 和 TGAs 等^[10-16]。近些年来,研究者还发现,ET、JA 和 SA 3 种抗病响应相关激素常在植物的营养生长期和果实发育时期启动对病原体的防御反应^[5,13,15,17-18]。然而,在抗病防御反应期内,特别是在病原感染的早期阶段,这些激素在番茄生长发育过程中的防御反应调控机制尚不清楚。

DNA 微阵列技术是分子生物学迅猛发展及运用的产物,是在 Northern 和 Southern 核酸杂交的基础上发展起来的一项新技术,是生物芯片中的一种,最突出的特点就是可一次性检测多种样品,获得多种基因的差异表达图谱,实现基因信息的快速检测^[19]。该研究采用不同的经典免疫相关激素(即 ET、MeJA 和 SA)分别处理番茄幼苗后,筛选鉴定抗病相关差异表达基因,然后通过

作者简介:许瑞瑞(1982-),女,博士,副教授,研究方向为植物逆境分子生物学与基因表达调控。E-mail: xurui2006@163.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31400225);潍坊市科技发展计划资助项目(2016GX016)。

收稿日期:2017-09-30

qRT-PCR 技术再次验证差异表达基因的表达,以期为今后研究番茄抗病相关基因的功能提供一定的参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试番茄“中蔬 6 号”种子购自山东农业大学种业部,试验所用的 RNA 提取试剂盒、TaKaRa 反转录试剂盒、SYBR® Green Realtime PCR Master Mix 等药品购自泰安普天生物有限公司,所用实时荧光定量 PCR 仪为 Bio-rad CFX 96,所有引物均由上海生工生物工程股份有限公司合成。

1.2 试验方法

1.2.1 番茄种植及激素处理

番茄种子用 50 °C 热水进行表面消毒 10 min,然后浸种 10 h,将大小基本一致的种子放于铺有滤纸的培养皿中,放置于光照培养箱中 28 °C 暗培养催芽 3~5 d。待番茄幼苗长至 2 cm 移入花盆中栽培。将生长 4 周的番茄幼苗分别进行 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ET、100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$

MeJA 和 1 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ SA 喷洒处理 6 h,用水喷洒处理 6 h 作为对照,分别取处理后的番茄幼苗,取样后液氮速冻后于 -80 °C 保存备用。

1.2.2 RNA 提取、微阵列杂交和数据分析

芯片杂交工作由北京博奥生物芯片有限公司完成。基本流程如下:用 Trizol 提取植物总 RNA,并对总 RNA 进行定量、质检,用 QIAGEN RNeasy® Kit 纯化总 RNA;cRNA 样品获得、纯化、浓度检测和片段化以及芯片杂交(GeneChip G2519F,4x44K Agilent microarrays,CA,USA);芯片洗涤、扫描及数据收集工作,最后进行芯片数据分析。

1.2.3 实时荧光定量 PCR 验证

根据 TaKaRa 反转录试剂盒操作说明将与微阵列分析使用相同的 RNA 反转录得到 cDNA,用于 qRT-PCR 表达分析;调整各模板浓度,每个基因扩增时均有内参基因(*Slactin*)同时扩增,每个样品重复 3 次。反应体系参照 SYBR® Green Realtime PCR Master Mix 说明书。实时荧光定量 PCR 所用的引物和选择验证差异表达明显基因的调控方式见表 1。

表 1 qRT-PCR 所用引物序列
Table 1 Primers used in the qRT-PCR

基因探针名称 Probe name	上游引物(5'-3') Forward primer	下游引物(5'-3') Reverse primer	调控方式 Regulation way
A_96_P031791	ACTACGGCAGAAGAAGCAG	ATTGTTGTGGTGAAGAAGATAAAG	上调
A_96_P164596	ACACAAGAACTACTCAATAACAAG	ACACACATCAAATCCTCCTG	上调
A_96_P012956	GAGAGTAAACAACAAGGAAAAGAG	CAGAGAGAAACAGAGGATGAAC	上调
A_96_P119167	ATTCCTCGCTCGTTCTG	CTCGTTATCGGTTCTTCCTG	上调
A_96_P245825	TATTGCTGCCGTTTGCCTTC	GCCTCTTTCTGTTCCTCTTCC	下调
A_96_P013616	CGGCTACCTTGACAGACC	ATTCCCTACCCTACTTGAGAC	下调
A_96_P037251	TTTTGATGGGCTGCTTTCC	TCTCTCCTGTTTTGGTTCTTG	下调
A_96_P022616	AATCCGACACGAACAAGAGG	AACAGACCAGCCAAGTAAGC	下调
A_96_P084814	ACGGAAGTGACAGCAGAAC	ATGAGGGAGCAGAATAAGAGC	下调
A_96_P230989	TCCAATCAACAACCACTATC	AGGCTTCTCGCACTTCTG	下调
SlActin	CTTCGTCTTCCACTTCAG	ATCATACCAGTCTCAACAC	—

1.3 数据分析

1.3.1 芯片数据分析

使用 Cluster 3.0 软件将各样品中有效的检测信号值进行聚类分析,采用 Hierarchical、Average

linkage 和 K-means 算法进行聚类,分析芯片重复性,并在整体上分析全部基因的表达模式,筛选差异表达明显基因(选择基因倍数变化 > 2.0 倍)。

1.3.2 实时荧光定量 PCR 数据分析

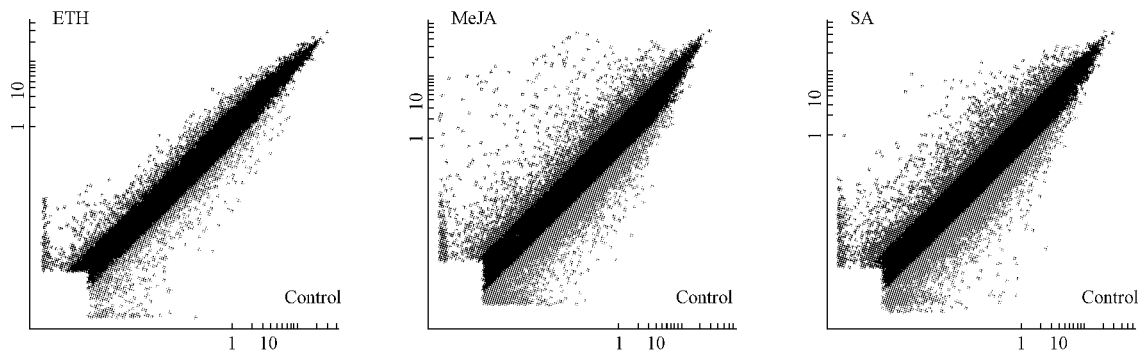
采用双标准曲线法,计算平均表达量和相对偏差,采用 Excel 软件作图。同时利用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 大致计算与内参的相对表达量。

2 结果与分析

2.1 微阵列芯片表达谱分析鉴定差异表达基因 (DEGs)

试验使用的安捷伦微阵列芯片共包含大约 42 000 个番茄探针,以供筛选鉴定与 3 种免疫激素(即 ETH、MeJA 和 SA)相关的抗病抗性基因。

由图 1 可以看出,激素处理后下调明显的差异表达基因多于上调的,且经 ETH 处理后筛选的 DEGs 明显少于用 MeJA 或 SA 处理后筛选的 DEGs。结果表明,番茄经过 SA 和 MeJA 激素处理后可以诱导更广泛的基因变化。芯片数据进一步分析发现(图 2),共同上调和下调的基因 Co-DEGs 分别筛选得到 178、498 个(基因倍数变化 >2.0 倍),其中基因倍数变化大于 3.5 倍的 Co-DEGs 有 29、167 个,大于 5 倍的 Co-DEGs 有 7、79 个。表明抗病信号激素处理后抑制了很多基因的表达。



注:上、下与中部分别表示上调、下调明显基因和变化不明显的基因。

Note: Up-regulated genes are shown on top, down-regulated genes in bottom, and non-DEGs in middle.

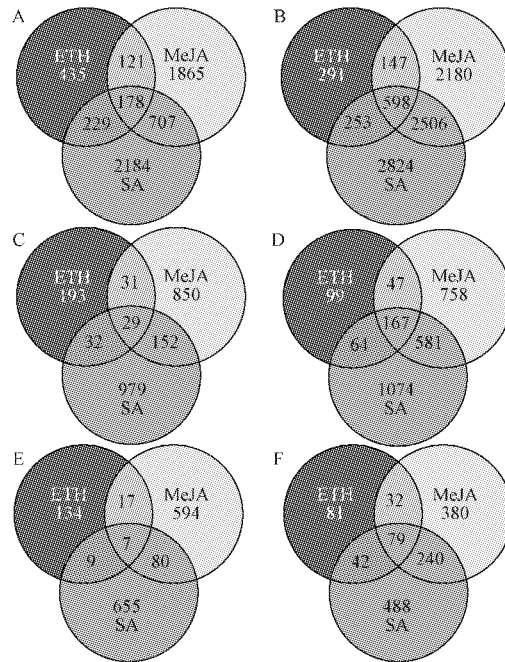
图 1 ETH、MeJA 和 SA 处理番茄幼苗后差异表达基因的分布

Fig. 1 Distribution of expressed genes in tomato seedlings under three hormone treatments

2.2 差异表达基因 DEGs 的分类

芯片数据分析结果显示,除了 15 个未知和 280 个不清楚的 Co-DEGs 之外,根据功能对 481 个已知或预测的 Co-DEGs 进行了分类。其中,有 17 个差异表达基因与激素反应有关,包括 JA、脱落酸(ABA)、生长素、赤霉素和 ET 等(表 2)。此外,30 个 Co-DEGs 编码参与信号转导的转录因子和蛋白质,如 WRKY、NAC、锌指蛋白、热休克蛋白、扩展蛋白、DREB1、MAPKK 和 MYB 相关转录因子等。有趣的是, NM_001247597(A_96_P162536 和 A_96_P091164)和 NM_001247196(A_96_P167902)分别是 JA 诱导的 WRKY 蛋白和 ABA 诱导的 MYB 转录因子(AIM1)(表 2)。

为了进一步对 DEGs 进行分类,该研究使用生物学在线软件 GOEAST(<http://omicslab.genetics.ac.cn/GOEAST/>)进行 GO 分类分析。GO 分析结果表明,筛选鉴定得到的 DEGs(基因倍数变化 >2.0 倍)多数与“激素和防御反应”“对其它刺激的反应”“发育过程”“其它生物过程”“信号转导”和“蛋白质代谢”过程有关。其中 3 种激素处理下分析到激素和防御反应相关的 DEGs 分别占 21.05%、8.33%和 11.06%,而响应其它刺激反应的 14.91%、8.33%和 14.89%;14.03%~17.87%的 DEGs 与发育过程相关,而约 40%的 DEGs 可能参与激素有关的蛋白质代谢和其它生物学过程(图 3)。



注: (A) 上调 > 2.0 倍, (B) 下调 > 2.0 倍, (C) 上调 > 3.5 倍, (D) 下调 > 3.5 倍, (E) 上调 > 5.0 倍, (F) 下调 > 3.5 倍; 处理之间的共同上调和下调基因的数量显示在重叠的圆圈中。

Note: (A) Fold change > 2.0, up-regulated. (B) Fold change > 2.0, down-regulated. (C) Fold change > 3.5, up-regulated. (D) Fold change > 3.5, down-regulated. (E) Fold change > 5.0, up-regulated. (F) Fold change > 5.0, down-regulated. The respective numbers of common up-regulated and down-regulated genes between treatments are shown in the overlapping circles.

图 2 3 种激素条件下上调和下调的差异表达基因的数量

Fig. 2 Number of up-regulated and down-regulated common and unique differentially expressed genes under three hormone treatment conditions

表 2 通过芯片分析鉴定的激素相关和发病相关 Co-DEGs

Table 2 Hormone-related and pathogenesis-related Co-DEGs identified by Agilent microarray analysis

探针名称 Probe name	调控方式 Regulation way	乙烯 Ethylene	茉莉酸甲酯 Methyl jasmonate	水杨酸 Salicylic acid	GenBank 收录号 GenBank No.	基因描述 Gene description
A_96_P131862	上调	2.54	42.72	2.08	NM_001247954	<i>Solanum lycopersicum</i> jasmonate ZIM-domain protein 1
A_96_P000076	上调	2.70	2.18	8.57	NM_001247043	<i>Solanum lycopersicum</i> jasmonic acid 2 (JA2)
A_96_P162536	上调	2.70	5.13	2.83	NM_001247597	<i>Solanum lycopersicum</i> JA-induced WRKY protein
A_96_P091164	上调	2.32	3.62	2.49	NM_001247597	<i>Solanum lycopersicum</i> JA-induced WRKY protein
A_96_P167902	上调	3.39	7.34	4.94	NM_001247196	<i>Solanum lycopersicum</i> ABA-induced MYB transcription factor (AIM1)
A_96_P221494	下调	2.04	2.85	8.75	NM_001246842	<i>Solanum lycopersicum</i> auxin response factor 4 (ARF4)
A_96_P074239	上调	2.43	2.48	4.26	NM_001247828	<i>Solanum lycopersicum</i> gibberellin 2-oxidase (GA2ox5)
A_96_P141092	上调	2.23	2.52	2.55	AI898755	Gibberellin 2-oxidase- <i>Solanum lycopersicum</i>
A_96_P125177	下调	4.69	3.94	2.92	TA56320_4081	Gibberellin 7-oxidase- <i>Cucurbita maxima</i> (Pumpkin) (Winter squash)
A_96_P013161	上调	3.39	2.04	2.50	NM_001247766	<i>Solanum lycopersicum</i> ethylene responsive element binding protein (EREB)
A_96_P216474	上调	2.20	2.53	2.13	NM_001246867	<i>Solanum lycopersicum</i> ethylene response factor 2
A_96_P012046	下调	4.71	2.78	2.27	NM_001247545	<i>Solanum lycopersicum</i> <i>Verticillium</i> wilt disease resistance protein (Ve1)
A_96_P012701	下调	19.95	20.47	9.53	NM_001247232	<i>Solanum lycopersicum</i> PR-5x (PR-5)
A_96_P229169	下调	6.82	76.37	34.89	NM_001247594	<i>Solanum lycopersicum</i> pathogenesis-related protein P4
A_96_P226499	下调	3.42	2.78	8.54	CK715363	Pathogenesis-related protein 10- <i>Solanum virginianum</i>
A_96_P087624	下调	24.05	43.34	26.46	TA36002_4081	Pathogenesis-related leaf protein 4 precursor- <i>Solanum lycopersicum</i>
A_96_P012306	上调	2.62	5.76	15.36	NM_001247058	<i>Solanum lycopersicum</i> Pti5

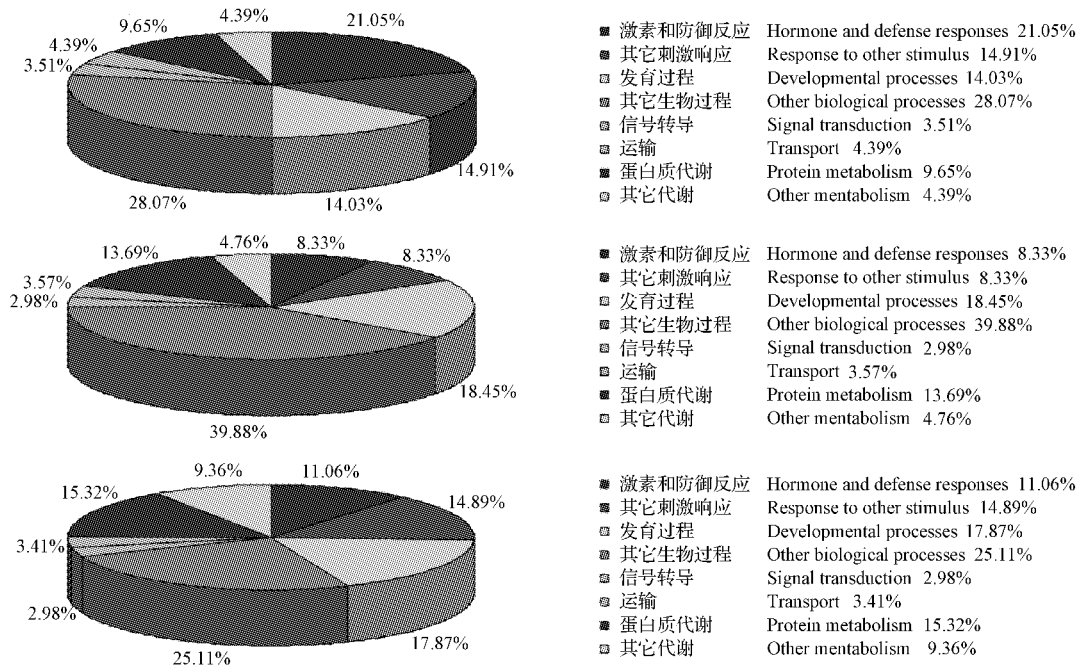


图3 不同激素处理条件下的DEGs的功能分类

Fig. 3 Functional categorization of DEGs in response to different hormone treatments

2.3 差异表达基因 DEGs 的 qRT-PCR 验证分析

为了验证芯片分析的准确性,以用于芯片试验的 RNA 反转录成 cDNA 为模板,利用 qRT-PCR 技术检测了随机选择的 10 个基因的表达水平(表 1,图 4)。其中,6 个 DEGs 参与根、叶和果实组织发育过程:EG553122 (Les. 8427, A_96_P031791)、EG553703 (Les. 23666, A_96_P119167)、AK328386 (Les. 14423, A_96_P245825)、DV105632 (Les. 6311, A_96_P022616)、DB702794 (Les. 22078, A_96_P084814) 和 AK323374 (Les. 24393, A_96_P230989); 另外,基因 NM_001247671 (Les. 3739, A_96_P012956) 和 NM_001247776 (Les. 9695, A_96_P037251) 分别编码热休克蛋白 (Heat shock protein, HSP) 和钙离子传感器类钙调磷酸酶 B 亚基蛋白 (Calcium sensor calcineurin B-like, CBL)。qRT-PCR 结果表明,与芯片分析结果 (AMDA, Agilent Microarrays Data) 相比,所有候选基因均显示出相似的表达趋势,只是表达量高低有不同程度的差别,说明 2 种试验方法的结果是基本一致的(图 4)。

3 结论与讨论

该研究主要针对 3 种抗病信号激素 ET、MeJA 和 SA 调控的番茄芯片表达谱进行了分析,力争为茄科抗病相关基因资源的筛选提供有价值的信息。该研究通过安捷伦微阵列分析技术,系统分析了番茄幼苗经过抗病信号激素处理后差异表达明显的基因,结果表明 3 种激素处理相对应的 2 261、8 302 和 9 479 个差异表达基因中有 178 和 598 个共同上调和下调的差异表达基因,约 62% 是已知或预测功能的基因,最后,通过 qRT-PCR 技术验证了 10 个差异表达基因的表达情况,结果与芯片数据基本一致。

研究证明,ABA 可通过抑制对 ET 和 SA 介导的防御反应来调节对病原菌的易感性^[20]; ABA 还能通过调节 SA 生物合成中的组分或者调控与主要防御反应有关的 OsNPR1 和 OsWRKY45 的表达来实现抑制水稻对白叶枯病菌的免疫反应作用^[21]。该研究通过 GO 分析筛选到 17 个基因参与激素的应答和发病相关过程,其中 AIM1(NM_001247196) 是番茄 ABA 响应的 MYB 转录因子,

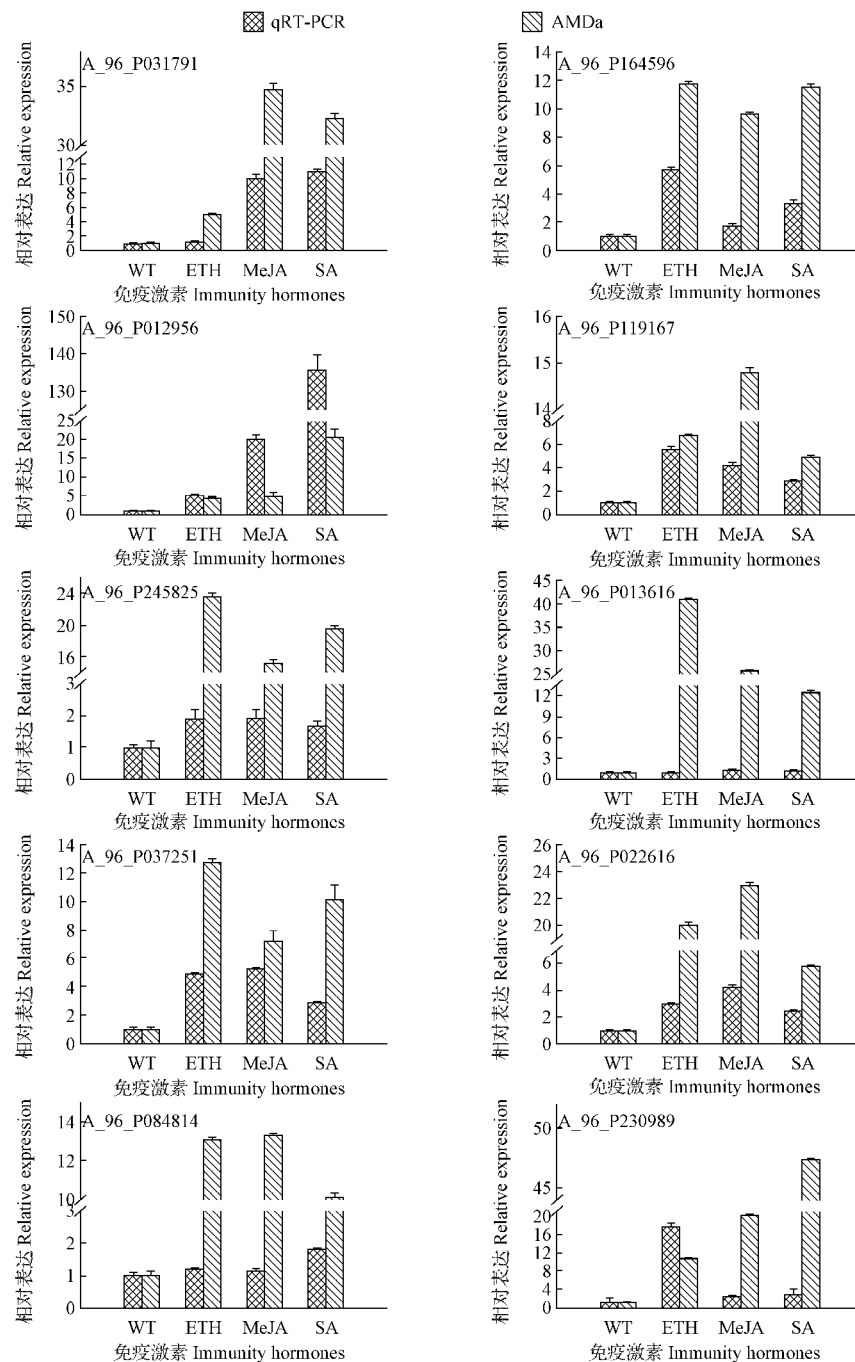


图4 筛选的10个差异表达基因的qRT-PCR分析

Fig. 4 qRT-PCR analysis of 10 selected genes of differentially expressed genes identified by Agilent microarray analysis

可以同时响应激素 ET、MeJA 和 SA; NM_001247954(A_96_P131862)、NM_001247043(A_96_P000076)和 NM_001247597(A_96_P162536)是 JA 相关诱导蛋白,属于具有 ZIM 结构域蛋白或者 WRKY 转录因子(表 2),结果显示,激素信

号在抗病相关反应中是十分复杂的网络调控途径。病原物相关分子模式触发的免疫(PAMP-triggered immunity, PTI)是基于细胞表面的模式识别受体对病原物相关分子模式的识别,能帮助植物抵抗大部分病原微生物^[22]; *PR1b* 可以被 JA

或 SA 处理诱导,是常用的抗病反应标记物,说明在水稻中 JA 和 SA 信号通路为共同防御系统或至少部分是共同的信号转导途径^[23-24]。结果表明,黄萎病抗性蛋白 Ve1(NM_001247545)、PR-5(NM_001247232)、病原相关蛋白 P4 及蛋白前体(NM_001247594 和 TA36002_4081)、病原相关蛋白 10(CK715363)和 Pti5(NM_001247058)均参与抗病激素免疫应答,推测这些基因可能参与调控对番茄抗病过程的免疫反应(表 2)。

前人研究表明,OsWRKY45 会受到苯并噻二唑和 JA 的诱导,而 OsWRKY45 能够激活水稻对稻瘟病菌和水稻白叶枯病菌的共同防御系统^[24-27]。JA-Ile 与靶向 JAZ 蛋白的 COI1 蛋白相互作用,从而导致转录激活因子 MYC2、MYC3 和 MYC4 的破坏^[28]。拟南芥 *AtWRKY70* 由 *AtMyb44* 和 *COI1* 诱导,*AtWRKY70* 过表达可调节 SA 依赖基因 *PR1*、*PR2* 和 *PR5* 的表达和 JA 依赖性防御基因 *COR1* 和 *VSP1* 的表达^[29]。该研究筛选得到的 JA 诱导的 WRKY 蛋白 NM_001247597 和 NM_001247766 参与 JA 和 ETH 激素的防御反应(表 2)。MYB、NAC 和 HSP 转录因子家族成员也参与控制各种激素介导的非生物胁迫与病原体应答途径之间的拮抗作用^[30-31]。由此,推测该研究芯片表达谱分析到的其它转录因子,如 NAC、锌指蛋白、热休克蛋白、扩展蛋白、DREB1、CBF3、CBL 和 MYB 等可能在番茄抗病免疫反应中起着重要作用。该研究有助于进一步研究 ET、MeJA 和 SA 信号通路之间的相互作用,为番茄抗病关键新基因的筛选及功能鉴定提供了参考依据。

参考文献

- [1] GIOVANNONI J J. Genetic regulation of fruit development and ripening[J]. The Plant Cell, 2004(16): S170-S180.
- [2] ARSHAD W, HAQ I U, WAHEED M T, et al. *Agrobacterium*-mediated transformation of tomato with *rolB* gene results in enhancement of fruit quality and foliar resistance against fungal pathogens[J]. PLoS One, 2014(9): e96979.
- [3] van LOON L C, GERAATS B P, LINTHORST H J. Ethylene as a modulator of disease resistance in plants[J]. Trends in Plant Science, 2006(11): 184-191.
- [4] CANTU D, BLANCO-ULATE B, YANG L, et al. Ripening-regulated susceptibility of tomato fruit to *Botrytis cinerea* requires NOR but not RIN or ethylene[J]. Plant Physiology, 2009, 150: 1434-1449.
- [5] BLANCO-ULATE B, VINCENTI E, POWELL A L, et al. Tomato transcriptome and mutant analyses suggest a role for plant stress hormones in the interaction between fruit and *Botrytis cinerea*[J]. Frontiers in Plant Science, 2013(4): 1-16.
- [6] BROWSE J. Jasmonate passes muster: A receptor and targets for the defense hormone[J]. Annual Review of Plant Biology, 2009, 60: 183-205.
- [7] KOORNNEEF A, LEON-REYES A, RITSEMA T, et al. Kinetics of salicylate-mediated suppression of jasmonate signaling reveal a role for redox modulation[J]. Plant Physiology, 2008, 147: 1358-1368.
- [8] SPOEL S H, DONG X. Making sense of hormone crosstalk during plant immune responses[J]. Cell Host Microbe, 2008(3): 348-351.
- [9] CAO H, BOWLING S A, GORDON A S, et al. Characterization of an *Arabidopsis* mutant that is non-responsive to inducers of systemic acquired-resistance[J]. The Plant Cell, 1994(6): 1583-1592.
- [10] PETERSEN M, BRODERSEN P, NAESTED H, et al. *Arabidopsis* map kinase 4 negatively regulates systemic acquired resistance[J]. Cell, 2000, 103: 1111-1120.
- [11] LI J, BRADER G, PALVA E T. The WRKY70 transcription factor: A node of convergence for jasmonate-mediated and salicylate-mediated signals in plant defense[J]. The Plant Cell, 2004(16): 319-331.
- [12] REN C M, ZHU Q, GAO B D, et al. Transcription factor WRKY70 displays important but no indispensable roles in jasmonate and salicylic acid signaling[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2008, 50: 630-637.
- [13] PIETERSE C M, LEON-REYES A, van der ENT S, et al. Networking by small-molecule hormones in plant immunity[J]. Nature Chemical Biology, 2009(5): 308-316.
- [14] ZANDER M, LA C S, LAMOTTE O, et al. *Arabidopsis thaliana* class-II TGA transcription factors are essential activators of jasmonic acid/ethylene-induced defense responses[J]. Plant Journal, 2010, 61: 200-210.
- [15] PIETERSE C M, van der DOES D, ZAMIOUDIS C, et al. Hormonal modulation of plant immunity[J]. Annual Review of Cell Development Biology, 2012(28): 489-521.
- [16] van der DOES D, LEON-REYES A, KOORNNEEF A, et al. Salicylic acid suppresses jasmonic acid signaling downstream of SCFCOI1-JAZ by targeting GCC promoter motifs via transcription factor ORA59[J]. The Plant Cell, 2013(25): 744-761.
- [17] EL O M, ELRAHMAN T A, RIGANO L, et al. *Botrytis cinerea* manipulates the antagonistic effects between immune pathways to promote disease development in tomato[J]. The Plant Cell, 2011(23): 2405-2421.
- [18] NAMBEESAN S, DATSENKA T, FERRUZZI M G, et al. Overexpression of yeast spermidine synthase impacts ripening, senescence and decay symptoms in tomato[J]. Plant Journal,

2010,63:836-847.

[19] LANG Q L, ZHOU X C, ZHANG X L, et al. Microarray-based identification of tomato microRNAs and time course analysis of their response to cucumber mosaic virus infection[J]. Journal of Zhejiang University Science B, 2011(12):116-125.

[20] JIANG C J, SHIMONO M, SUGANO S, et al. Absciscic acid interacts antagonistically with salicylic acid signaling pathway in rice *Magnaporthe grisea* interaction[J]. Molecular Plant Microbe Interaction, 2010(23):791-798.

[21] XU J, AUDENAERT K, HOFTE M, et al. Absciscic acid promotes susceptibility to the rice leaf blight pathogen *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae* by suppressing salicylic acid-mediated defenses[J]. PLoS One, 2013(8):e67413.

[22] MILLET Y A, DANNA C H, CLAY N K, et al. Innate immune responses activated in *Arabidopsis* roots by microbe-associated molecular patterns[J]. The Plant Cell, 2010(22):973-990.

[23] AGRAWAL G K, RAKWAL R, JWA N S. Rice (*Oryza sativa* L.) *OsPRIb* gene is phytohormonally regulated in close interaction with light signals[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2000,278:290-298.

[24] TAMAOKI D, SEO S, YAMADA S, et al. Jasmonic acid and salicylic acid activate a common defense system in rice[J]. Plant Signaling Behavior, 2013(8):e24260.

[25] SHIMONO M, SUGANO S, NAKAYAMA A, et al. Rice

WRKY45 plays a crucial role in benzothiadiazole-inducible blast resistance[J]. The Plant Cell, 2007(19):2064-2076.

[26] SHIMONO M, KOGA H, AKAGI A, et al. Rice WRKY45 plays important roles in fungal and bacterial disease resistance[J]. Molecular Plant Pathology, 2012(13):83-94.

[27] YAMADA S, KANO A, TAMAOKI D, et al. Involvement of OsJAZ8 in jasmonate-induced resistance to bacterial blight in rice[J]. The Plant Cell Physiol, 2012,53:2060-2072.

[28] FERNÁNDEZ-CALVO P, CHINI A, FERNÁNDEZ-BARBERO G, et al. The *Arabidopsis* bHLH transcription factors MYC3 and MYC4 are targets of JAZ repressors and act additively with MYC2 in the activation of jasmonate responses[J]. The Plant Cell, 2011(23):701-715.

[29] SHIM J S, JUNG C, LEE S, et al. AtMYB44 regulates WRKY70 expression and modulates an antagonistic interaction between salicylic acid and jasmonic acid signaling[J]. Plant Journal, 2013,73:483-495.

[30] XIA N, ZHANG G, LIU X Y, et al. Characterization of a novel wheat NAC transcription factor gene involved in defense response against stripe rust pathogen infection and abiotic stresses[J]. Molecular Biology Reports, 2010,37:3703-3712.

[31] SEO P J, LEE S B, SUH M C, et al. The MYB96 transcription factor regulates cuticular wax biosynthesis under drought conditions in *Arabidopsis*[J]. The Plant Cell, 2011(23):1138-1152.

Microarray-based Analysis of Disease Resistance Signaling Hormones in Tomato

XU Ruirui

(College of Biological and Agricultural Engineering, Weifang University/The 13th Five Year Key Laboratory of Biochemistry and Molecular Biology in Universities of Shandong, Weifang, Shandong 261061)

Abstract: Tomato was used as test material, the Agilent chips and real-time fluorescent quantitative PCR technology were used to identify differentially expressed genes (DEGs), especially disease resistance genes, after classic innate immunity-associated plant hormones ethylene (ET), methyl jasmonate (MeJA), and salicylic acid (SA) treatment, in order to further study on disease resistance signal hormone response, and provide some references for the synergy between signaling pathways. The results showed that 2 261, 8 302, and 9 479 DEGs were identified in tomato after treatment with ET, MeJA, or SA, respectively. Gene ontology analysis indicated that these DEGs were associated with hormone and defense responses, developmental processes, signal transduction and protein metabolism pathways. Among these DEGs, 178 up-regulated common DEGs (Co-DEGs) and 598 down-regulated Co-DEGs were identified. Aside from unknown Co-DEGs, 481 known or predicted Co-DEGs were categorized on the basis of their functions. In addition, the expression of 10 DEGs was assessed via quantitative real-time polymerase chain reaction, and the results generally agreed with the Agilent microarray data.

Keywords: tomato; microarray analysis; hormone; disease resistance; expression analysis