

研究报告 Original Papers

低能离子束辐照下水稻中与ABA相关基因的差异表达

李勇慧, 于相丽, 程彦伟, 押辉远*

洛阳师范学院生命科学系, 河南洛阳471022

摘要: 本文检测了用基因芯片筛选出水稻种子被低能 N^+ 辐照后引起的差异表达的ABA代谢和信号途径相关基因。结果显示, 与ABA合成相关的ZDS、Lyc- β 、ZEP、NCED、SDR这五种酶的基因表达量均为上调; 受ABA调控的 H^+ -ATPase、NR、Rubisco的基因表达变化显著; ABA依赖的逆境应答蛋白DREB和ASR的表达量上调; 受ABA信号转导调控的蛋白LEA的表达量下调, GAD和P5CS的表达量上调。这些结果表明, $6 \times 10^{17} N^+ \cdot cm^{-2}$ 剂量的辐照可能促进了ABA的合成和幼苗气孔的开放, 同时促进了ABA信号系统并激活或抑制了一些相关基因的表达。

关键词: 氮离子束辐照; 水稻; ABA; 基因芯片

Different Expression of ABA-Related Genes in Rice under Low-Energy N^+ Irradiation

LI Yong-Hui, YU Xiang-Li, CHENG Yan-Wei, YA Hui-Yuan*

College of Life Sciences, Luoyang Normal University, Luoyang, Henan 471022, China

Abstract: The different expression of ABA metabolism and signaling pathway-related genes in the rice seeds induced by low-energy N^+ irradiation were examined using Agilent Rice Oligo Microarray. The results showed that the gene expressions of ZDS, Lyc- β , ZEP, NCED, and SDR which were related with ABA synthesis were up-regulated. The expressions of H^+ -ATPase, NR, Rubisco which were ABA-regulated functional proteins had significant changes. The expressions of ABA-dependent stress response proteins DREB and ASR were also up-regulated. And the expressions of ABA signal-induced protein LEA was down-regulated while GAD and P5CS were up-regulated. These results suggested that the $6 \times 10^{17} N^+ \cdot cm^{-2}$ nitrogen ion beam might promote the ABA synthesis and the seedling stomatal opening, while leading to ABA signaling system and activation or inhibition of gene expression.

Key words: N^+ beam irradiation; rice; abscisic acid; gene chip

植物激素脱落酸(abscisic acid, ABA)不但调节植物种子的萌发、发育及幼苗生长等一系列生长发育过程, 同时也是植物适应逆境的最重要的信号分子(Adie等2007)。在ABA调控胁迫相关基因表达的信号转导途径中, ABA与其受体PYR/PYL/RCAR结合, 通过与直接下游信号调节子—蛋白磷酸酶2C (PP2C)的相互作用, 抑制PP2C的活性, 解除PP2C对其下游信号调节子SnRK2蛋白激酶的抑制, 从而使SnRK2蛋白激酶能够通过磷酸化而激活下游转录因子, 实现ABA的生理效应(Fujii等2009; Cutler等2010; Umezawa等2010)。

自从余增亮等(1991)率先开展了利用低能氮离子束辐照农作物种子的生物效应研究以来, 王彩莲等(1995)又把低能离子束辐照应用于二倍体

及四倍体水稻遗传改良方面(黄群策等2003; 黄群策和代西梅2004)。杨剑波等(1994)也通过利用低能离子束介导的转基因技术成功地把目的基因导入水稻获得转基因植株。赵帅鹏等(2007)的研究也表明低能离子束对水稻愈伤组织有着显著的诱变效果, 从而进一步拓宽了离子束的诱变范围。基因芯片是指将DNA探针片段有序地固化于支持物表面上, 与标记的样品进行杂交, 通过检测杂交信

收稿 2011-07-25 修定 2011-12-27

资助 国家自然科学基金基金(30800204)、河南省教育厅自然科学基金基础研究计划(2009B180019和2010B180020)和洛阳师范学院省部级以上项目培育金(10000858)。

* 通讯作者(E-mail: yahuiyuan@yahoo.com.cn; Tel: 0379-65526176)。

号对生物样品的快速、并行、高效的检测或诊断, 是进行DNA序列分析及基因表达信息分析的有力工具(Tsukahara和Nagasawa 2004)。通过基因芯片技术可以整体研究低能离子束辐照水稻后的生物效应机制, 但低能离子束辐照特殊的生物效应与X射线辐射相比, 其机制研究尚未深入。本实验采用提取低能 N^+ 束辐照处理的水稻总RNA, 用水稻全基因表达谱芯片进行扫描, 通过基因芯片筛选出被低能 N^+ 辐照后引起的差异表达的ABA代谢和信号途径相关的基因, 根据这些基因表达量的变化, 探讨ABA在低能离子束辐照水稻后引起的生物效应中的作用。

材料与amp;方法

1 材料

水稻品种‘中华10号’(*Oryza sativa* L. ssp. japonica)为郑州大学河南省离子束生物工程重点实验室保存, 基因芯片在生物芯片上海国家工程研究中心定制。低能离子束注入机型号UIL. 0.1512, TNV, 购自俄罗斯强电研究所, 其工作真空度为 $2 \times 10^{-3} \sim 5 \times 10^{-3}$ MPa。总RNA提取试剂(Takara D312)、DNaseI (D2215)等购自宝生物工程(大连)有限公司。PCR仪为MJ公司(PTC-100), 基因芯片为水稻Agilent单通道表达谱芯片。

2 试验方法

选取饱满一致的水稻种子(所有种子均来自同一单株), 种胚朝上排放在注入盘上, 真空(3×10^{-3} Pa)接受低能 N^+ (30 keV)的注入, 注入剂量为 1×10^{17} 、 3×10^{17} 、 6×10^{17} 和 9×10^{17} $N^+ \cdot cm^{-2}$ 。注入完毕后, 部分种子立即在28 °C人工气候箱中黑暗条件和适当的湿度下发芽96 h, 所有种子均在仅含0.6%的琼脂培养基中培养。以未注入 N^+ 的种子作对照。以上处理做3次生物学重复。每个重复100粒种子。

试验前将所用试剂和器皿按RNA提取试剂盒说明进行处理。水稻种子在适宜条件下发芽96 h, 从发芽盘中随机选取30株均一的幼苗, 提取全株的总RNA。提取方法见试剂盒说明书, 提取完后用DNaseI处理样品, 以除去其中的DNA, 重复3次。RNA的含量和纯度用分光光度计进行检测(分光光度计ND1000)。

发芽盘中剩下的幼苗作发芽率统计, 置于光照培

养箱中25 °C条件下, $55.5 \mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ 光照12 h, 黑暗12 h, 光照与黑暗交替进行, 10 d计算发芽率, 全株幼苗在60 °C烘干12 h称干重。活力指数=发芽率 \times 干重。

水稻Agilent单通道表达谱芯片的杂交、扫描、数据采集及处理均由生物芯片上海国家工程研究中心完成。用基因芯片对低能 N^+ 束(6×10^{17} $N^+ \cdot cm^{-2}$)辐照水稻后与ABA合成相关酶 ζ -胡萝卜素脱氢酶(zeta-carotene desaturase, ZDS)、番茄红素 β 环化酶(lycopene beta/epsilon-cyclase, Lyc- β)、环氧玉米黄质环化酶(zeaxanthin epoxidase, ZEP)、9-环氧顺类胡萝卜素双加氧酶(9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase, NCED)、短链醇脱氢酶/还原酶(short-chain dehydrogenase/reductase, SDR)及ABA信号途径相关基因质膜氢-ATP酶(plasma membrane H^+ -ATPase, H^+ -ATPase)、硝酸还原酶(nitrate reductase, NR)、1,5-二磷酸核酮糖羧化/加氧酶(rubisco)、DREB转录因子、ABA-胁迫-成熟诱导基因(ABA-, stress-, and ripening-induced protein, ASR)、胚胎晚期富集蛋白(late embryogenesis abundant protein, LEA)、谷氨酸脱羧酶(glutamate decarboxylase, GAD)和 Δ 1-吡咯啉-5-羧酸合成酶(delta 1-pyrroline-5- carboxylate synthetase, P5C5)进行分析, 筛选出差异表达在1.5倍以上的探针($P < 0.05$)。

结果与amp;讨论

1 不同氮离子剂量辐照对水稻幼苗活力指数的影响

结果(图1)表明, 发芽率和活力指数随氮离子剂量上升而增加, 6×10^{17} $N^+ \cdot cm^{-2}$ 处理的最高, 而 9×10^{17} $N^+ \cdot cm^{-2}$ 的发芽率和活力指数则急剧下降, 比对照的更低。结果显示 6×10^{17} $N^+ \cdot cm^{-2}$ 和 9×10^{17} $N^+ \cdot cm^{-2}$ 剂量处理的3项指标 P 值均小于0.05, 说明 6×10^{17} $N^+ \cdot cm^{-2}$ 和 9×10^{17} $N^+ \cdot cm^{-2}$ 辐照的水稻种子的发芽率、干重、活力指数等方面与对照相比差异显著。但 6×10^{17} $N^+ \cdot cm^{-2}$ 处理是显著上升, 而 9×10^{17} $N^+ \cdot cm^{-2}$ 处理是显著下降。因此, 本文主要研究 6×10^{17} $N^+ \cdot cm^{-2}$ 辐照对水稻相关基因表达量的影响。

2 低能氮离子束辐照对水稻ABA生物合成相关酶基因的表达影响

近年来的研究已经明确高等植物ABA生物合成的主要途径(C_{40} 间接途径)可分为3个阶段: (1)在质体内形成胡萝卜素。 ζ -胡萝卜素在 ζ -胡萝卜素

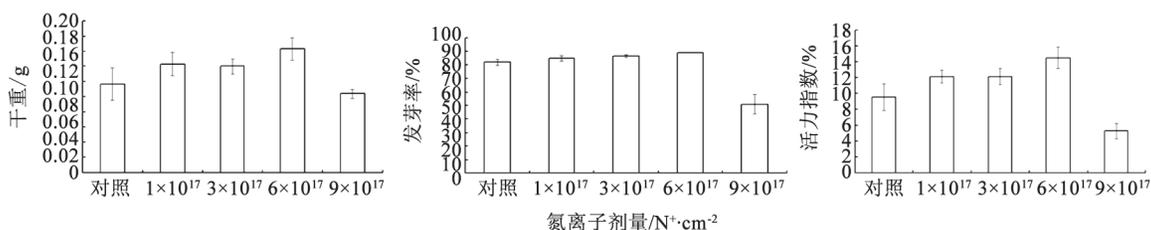


图1 不同氮离子辐照对水稻幼苗的干重、发芽率和活力指数的影响

Fig.1 Effects of different N⁺ beam irradiation on the dry weight, germination percentage and vigor index of rice seedling

脱氢酶(ZDS)作用下成为番茄红素,然后在番茄红素β环化酶(Lyc-β)作用下形成β-胡萝卜素。(2)在质体内形成黄质醛。由玉米黄质环化形成环氧玉米黄质由环氧玉米黄质环化酶(ZEP)催化形成新黄质,紫黄质及新黄质可在9-环氧顺类胡萝卜素双加氧酶(NCED)作用下氧化裂解形成黄质醛。(3)黄质醛在细胞溶胶内转变成ABA。黄质醛被短链醇脱氢酶/还原酶(SDR)催化形成黄质ABA醛,然后转变成ABA (Nambara和Marion-Poll 2005)。参与反应的ZDS、Lyc-β、ZEP、NCED和SDR可能是ABA合成的主要调控酶。因植物中NCED基因的超表达和ABA水平升高密切相关,且在干旱胁迫时又随着ABA的积累而快速诱导,所以长期以来NCED被认为是ABA生物合成的关键酶(Hwang等2010)。

从表1可以看出,低能N⁺束辐照水稻后,ABA合成途径中的主要调控酶ZDS、Lyc-β、ZEP、NCED和SDR的表达量均为上调($P < 0.05$),其中SDR酶的Os06g0129100探针上调倍数为5.47,且仅在 $6 \times 10^{17} \text{ N}^+ \cdot \text{cm}^{-2}$ 氮离子束注入时探针有显示。这说明 $6 \times 10^{17} \text{ N}^+ \cdot \text{cm}^{-2}$ 的低能N⁺束辐照水稻有可能促

进了ABA的合成。

3 低能氮离子束辐照后水稻H⁺-ATPase、NR和Rubisco基因的表达

Goh等(1996)在研究ABA诱导鸭跖草气孔关闭时,认为引起气孔关闭是由于H⁺-ATPase被抑制。NO也是一个介导ABA诱导的气孔关闭的关键性信号分子,NR介导的NO合成对于ABA诱导的气孔关闭是必须的(肖强和郑海雷2005)。低能氮离子束辐照水稻后,H⁺-ATPase检测到7个有表达的探针,其中2个探针(Os02g0825600和Os01g0966000)表达量为显著上调(表2),其他5个探针表达量均为上调(差异倍数分别为1.18、1.11、1.09、1.04和1.16)。而NR检测到2个有表达探针,其表达量均为下调(表2)。

Rubisco是催化RuBP羧化/加氧反应,是光合作用中重要的羧化酶,也是光呼吸中的加氧酶。Rubisco表达量的增加可以增强植物对干旱的抗性(Ali和Komatsu 2006)。低能离子束辐照后,Rubisco检测到9个探针有表达,其中5个探针的表达量显著上调(表2),其余4个探针表达量均为上调(差异倍数分别为1.41、1.21、1.06和1.19),说明低能离

表1 氮离子辐照后水稻中与ABA生物合成相关酶EST的表达

Table 1 The expressions of ABA biosynthesis-related enzymes of rice under N⁺ beam irradiation

蛋白名称	探针总数	表达探针数	探针名称	P值	表达差异倍数	变化方向
ζ-胡萝卜素脱氢酶(ZDS)	1	1	Os07g0204900	0.003	1.90	上调
番茄红素β环化酶(Lyc-β)	2	2	Os01g0581300	0.003	1.95	上调
玉米黄质环化酶(ZEP)	3	3	Os04g0448900	0.022	1.85	上调
			Os12g0435200	0.022	2.48	上调
9-环氧顺类胡萝卜素双加氧酶(NCED)	4	2	Os12g0435200	0.022	2.48	上调
			Os07g0154100	0.004	2.48	上调
短链醇脱氢酶/还原酶(SDR)	39	38	Os06g0129100	0.006	5.47	上调
			Os09g0459800	0.001	2.48	上调
			Os11g0499600	0.040	1.80	上调

表2 氮离子辐照后水稻中H⁺-ATPase、NR和Rubisco基因的表达Table 2 The gene expression of H⁺-ATPase, NR and Rubisco genes of rice under N⁺ beam irradiation

蛋白名称	探针总数	表达探针数	探针名称	P值	表达差异倍数	变化方向
质膜氢-ATP酶(H ⁺ -ATPase)	9	7	Os02g0825600	0.002	1.90	上调
			Os01g0966000	0.027	2.86	上调
硝酸还原酶(NR)	3	2	Os08g0468100	0.030	2.02	下调
			Os08g0468700	0.030	1.90	下调
1,5-二磷酸核酮糖羧化/加氧酶(Rubisco)	9	9	Os05g0427800	0.050	1.80	上调
			Os06g0114000	0.014	2.01	上调
			Os06g0114000	0.006	2.00	上调
			Os10g0356000	0.040	1.83	上调
			Os12g0277500	0.005	1.94	上调

子束辐照诱导了Rubisco的表达,从而使植株增强了对干旱的抗性。故低能离子束辐照诱导H⁺-ATPase表达量增加,而NR表达量下调,Rubisco表达量上调,说明低能离子束辐照水稻可能诱导了幼苗气孔开放。

4 低能氮离子束辐照后水稻DREB和ASR基因的表达

DREB转录因子是能够与真核生物基因启动子区域中顺式作用元件发生特异性作用的DNA结合蛋白。近年研究发现,水稻DREB基因受干旱、高盐、低温以及其他逆境胁迫诱导,从而使DREB逆境应答基因得以表达,并预示着DREB基因在增强水稻的综合抗性及其稳产性等方面将有很好的应用前景(刘宇锋等2008)。低能离子束辐照后,DREB基因中检测到14个探针有表达,其中3个探针的表达量显著上调(表3),而且在这3个探针的上游的500~1 200 bp处发现了ABRE的核心序列acgtg,其余10个探针上调差异倍数从1.01到1.20。说明低能离子束辐照水稻后可能促进了ABA合成,并与其它蛋白一起更有机会结合ABRE,提高了

DREB的转录强度。ASR是近年来从植物中发现的一类蛋白,它的生理作用还不清楚,据报道该基因的表达受低温、渗透、ABA处理等胁迫诱导,在果实的成熟过程中,ASR基因也被诱导表达(Gilad等1997; Padmanabhan等1997)。干旱和低温胁迫信号通过依赖ABA和不依赖ABA两条途径调控各种基因的表达。在依赖ABA途径中,ASR基因的表达受ABA诱导。研究表明松树ASR基因IP3在缺水胁迫下的表达部分受ABA调控(Gilad等1997)。低能离子束辐照后ASR基因中检测到有5个探针有表达,其中4个探针检测到表达量显著上调(表3),另外一个探针上调倍数为1.05 ($P>0.05$),说明低能离子束辐照可能促进了ABA的合成,而ABA诱导了ASR基因的表达,表明ASR基因参与了ABA信号系统,低能离子束辐照可能促进了ABA信号系统的运转。

5 低能氮离子束辐照后水稻中LEA、GAD和P5CS基因的表达

LEA是胚胎发生后种子中大量积累的一系列蛋白质,与植物的抗逆性密切相关,是一种多功

表3 氮离子辐照后水稻中DREB和ASR基因的表达

Table 3 The gene expression of DREB and ASR of rice under N⁺ beam irradiation

蛋白名称	探针总数	表达探针数	探针名称	P值	表达差异倍数	变化方向
DREB转录因子	14	13	Os02g0752800	0.040	1.83	上调
			Os02g0677300	0.050	1.80	上调
			Os04g0572400	0.009	2.37	上调
ABA-胁迫-成熟诱导蛋白(ASR)	5	5	Os01g0959200	0.005	6.60	上调
			Os01g0959100	0.013	4.51	上调
			Os04g0543000	0.001	1.87	上调
			Os04g0423400	0.009	2.00	上调

能的逆境蛋白。外源ABA胁迫或低温处理番茄离体胚和根、茎、叶等营养组织, 都能诱导出特异LEA mRNAs和LEA蛋白(李剑等2010)。低能离子束辐照后, 检测到LEA基因有表达的探针14个, 其中4个探针的表达量显著下调(表4), 3个探针表达量显著下调(差异倍数为2.05、1.75和1.80, $P>0.05$),

3个探针表达量下调(差异倍数为1.37、1.32和1.35, $P<0.05$), 其余4个探针表达量下调(差异倍数为1.27、1.02、1.11和1.03, $P>0.05$), 说明低能离子束辐照水稻后可能促进了ABA的合成, 而ABA又抑制了LEA基因的表达, 具体原因及过程有待进一步研究分析。

表4 氮离子辐照后水稻中LEA、GAD和P5CS基因的差异

Table 4 The gene expression of LEA, GAD and P5CS of rice under N^+ beam irradiation

蛋白名称	探针总数	表达探针数	探针名称	P值	表达差异倍数	变化方向
胚胎晚期富集蛋白(LEA)	16	14	Os05g0182000	0.002	1.80	下调
			Os02g0250600	0.050	1.82	下调
			Os01g0225600	0.001	1.80	下调
			Os01g0968100	0.050	2.98	下调
			Os08g0465800	0.016	2.00	上调
谷氨酸脱羧酶(GAD)	2	2	Os01g0848200	0.040	2.21	上调
$\Delta 1$ -吡咯啉-5-羧酸合成酶(P5CS)	2	2	Os05g0455500	0.002	1.50	上调

GAD催化谷氨酸脱羧形成GABA, 外源ABA和NaCl处理均能刺激GAD活性, 表明二者可能以类似的机制诱导GABA积累。ABA处理使GAD活性达到最大值的时间较NaCl处理的早, 推测盐胁迫处理先引起ABA增加, 再诱导GAD活性。盐胁迫可能通过影响胞内第二信使 Ca^{2+} 水平使GAD活性增加, 从而引起GABA的积累, ABA如何影响GAD活性, 需要更直接的分子生物学证据(周翔等2005)。低能离子束辐照水稻后, GAD基因中检测到2个探针有表达, 其中1个探针的表达量显著上调(表4), 另一探针表达量上调倍数为1.30 ($P>0.05$), 说明低能离子束辐照可能促进了ABA的合成, 而ABA诱导了GAD基因的表达。

从水稻(*Oryza sativa*)品种‘Akibare’的cDNA文库中分离并鉴定了一个脯氨酸合成关键酶基因P5CS的cDNA (cosP5CS), Northern Blotting分析表P5CS基因是被干旱胁迫所诱导, 同时也可以被高盐、脱水、ABA和低温等其他逆境胁迫诱导(Ingram等1997)。从表4可知, 低能离子束辐照后P5CS基因中检测到2个探针有表达, 2个探针的表达量均上调, 说明低能离子束辐照可能促进了ABA的合成, 而ABA又诱导了P5CS基因的表达。

本文用 $6 \times 10^{17} N^+ \cdot cm^{-2}$ 的低能 N^+ 束辐照处理的水稻在发芽率、干重、活力指数方面有明显优势, 这种生长状况可能与经过 N^+ 束辐照处理的水稻中

一些ABA相关基因的表达量上调或下调有关。通过进一步的分析发现, 低能离子束辐照水稻后, 与ABA合成相关的5种重要的酶表达量上调, 说明低能离子束辐照可能促进了ABA的合成。与气孔开放相关的 H^+ -ATPase、NR、Rubisco酶的基因表达量也发生了变化, 说明辐照可能促进了幼苗气孔的开放, 从而有利于幼苗的光合作用, 对水稻幼苗活力指数的提高可能有着重要的作用。虽然本实验通过低能离子束辐照促进了ABA的合成, 但合成的量不足以引起气孔的关闭, 所以低能离子束辐照后有可能促进了水稻幼苗气孔的开放。而与ABA信号转导相关的DREB和ASR基因的表达量上调, 说明低能离子束辐照可促进ABA信号系统的运转。LEA基因的表达量下调, GAD和P5CS基因表达量上调, 说明辐照可能促进了ABA的合成, 而ABA抑制或促进了相应基因的表达。这些基因表达量的变化对水稻生长发育可能起着重要作用。综上所述, 低能离子束辐照的生物效应与内源ABA的合成和ABA依赖的信号基因表达有着密切的关系。对于这些现象的具体过程及其原因有待于进一步的深入探究。

参考文献

黄群策, 代西梅(2004). 低能氮离子束对不同倍性水稻的诱变效应. 杂交水稻, 19 (3): 57
 黄群策, 梁秋霞, 李玉峰, 余增亮(2003). 低能氮离子注入同源四倍

- 体水稻的生物学效应. 激光生物学报, 12 (5): 355
- 刘宇锋, 高国庆, 李道远(2008). 水稻抗旱生理生化及其相关基因研究进展, 24 (2): 219~224
- 李剑, 赵常玉, 张富生, 王锁民, 包爱科, 张金林(2010). LEA蛋白与植物抗逆性. 植物生理学通讯, 46 (11): 1101~1106
- 童超(2008). ABA生理功能与信号转导相关综述. 科技资讯, (10): 44~45
- 王彩莲, 慎玫, 陈秋方, 徐刚(1995). 氮离子注入对水稻诱变效应的初步研究. 核农学报, 9 (1): 13
- 肖强, 郑海雷(2005). 植物中的一氧化氮信号分子. 生物学通报, 11 (40): 17~18
- 杨剑波, 余增亮, 吴李君, 吴家道, 吴跃进, 许智宏(1994). 应用低能离子束介导法获得水稻转基因植株. 科学通报, 39 (16): 1530~1534
- 余增亮, 邱励俭, 霍裕平(1991). 离子注入生物效应及育种研究进展. 安徽农学院学报, 18 (4): 251~257
- 赵帅鹏, 黄雅琴, 贾宏汝, 黄群策, 秦广雍(2009). 低能离子束注入水稻愈伤组织的生物学效研究. 生物物理学报, 25: 516
- 周翔, 吴晓岚, 李云, 张蜀秋(2005). 盐胁迫下玉米幼苗ABA和GABA的积累及其相互关. 应用与环境生物学报, 11(4): 412~415
- Adie BAT, Pérez-Pérez J, Pérez-Pérez MM, Godoy M, Sánchez-Serrano JJ, Schmelz EA, Solano R (2007). ABA is an essential signal for plant resistance to pathogens affecting JA biosynthesis and the activation of defenses in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 19: 1665~1681
- Ali GM, Komatsu S (2006). Proteomic analysis of rice leaf sheath during drought stress. *J Proteome Res*, 5 (2): 396~403
- Cutler SR, Rodriguez PL, Finkelstein RR, Abrams SR (2010). Abscisic acid: emergence of a core Signaling network. *Annu Rev Plant Biol*, 61: 651~679
- Fujii H, Chinnusamy V, Rodrigues A, Rubio S, Antoni R, Park SY, Cutler SR, Sheen J, Rodriguez PL, Zhu JK (2009). *In vitro* reconstitution of an abscisic acid signaling pathway. *Nature*, 462: 660~664
- Gilad A, Amitai-Zeigerson H, Bar-Zvi D, Scolnik PA (1997). ASR1, a tomato water stress- regulated gene: genomic organization, developmental regulation and DNA-binding activity. *Acta Hort*, 447: 441~453
- Grossmann K, Scheltrup F, Kwiatkowski J, Caspar C (1996). Induction of abscisic acid is a common effect of auxin herbicides in susceptible. *J Plant Physiol*, 149: 475~478
- Hwang SG, Chen HC, Huang WY, Chu YC, Shiib CT, Cheng WH (2010). Ectopic expression of rice OsNCED3 in *Arabidopsis* increases ABA level and alters leaf morphology. *Plant Sci*, 178: 12~22
- Ingram J, Chandler JW, Gallager L, Salamini F, Bartels D (1997). Analysis of cDNA clones encoding sucrose phosphate synthase in relation to sugar interconversions associated with dehydration in the resurrection plant *Craterstigma plantagineum* Hochst. *Plant Physiol*, 115: 113~121
- Nambara E, Marion-Poll A (2005). Abscisic acid biosynthesis and metabolism. *Annu Rev Plant Biol*, 56: 165~185
- Padmanabhan V, Dias DMAL, Newton RJ (1997). Expression analysis of a gene family in loblolly pine (*Pinus taeda* L.) induced by water deficit stress. *Plant Mol Biol*, 35: 801~807
- Tsukahara T, Nagasawa H (2004). Probe-on-carriers for oligonucleotide microarrays (DNA chips). *Sci Technol Adv Material*, 5 : 359~362.
- Umezawa T, Nakashima K, Miyakawa T, Kuromori T, Tanokura M, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K (2010). Molecular basis of the core regulatory network in ABA responses: sensing, signaling and transport. *Plant Cell Physiol*, 51: 1821~1839