

司爱君,陈红,余渝,等. WRKY 转录因子在植物非生物胁迫抗逆育种中的应用[J]. 江苏农业科学,2019,47(16):9-13.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.16.003

WRKY 转录因子在植物非生物胁迫抗逆育种中的应用

司爱君,陈红,余渝,孔宪辉,刘丽,王旭文,田琴

(新疆农垦科学院棉花研究所/农业农村部西北内陆区棉花生物学与遗传育种重点实验室/
新疆生产建设兵团棉花遗传改良与高产栽培重点实验室,新疆石河子 832000)

摘要:干旱、高盐和低温等非生物逆境是影响农作物产量的重要因素。WRKY 转录因子由于其过量表达能够提高植物抗旱、耐盐、耐低温、抗冻甚至抵抗重金属等逆境胁迫的能力,因此被作为应用基因工程途径进行植物抗逆性改良的理想候选基因。在分子育种中,增加 1 个关键的转录因子的调控能力,能同时激活多个功能基因表达,从而提高植株综合抗逆性。本文主要综述了 WRKY 转录因子的结构、功能、转录调控机制研究以及近年来国内外 WRKY 转录因子新基因的发现及其在培育抗逆性转基因植物中的应用,以期植物抗逆分子育种改良提供参考。

关键词:WRKY;转录因子;转基因;非生物胁迫;抗逆育种

中图分类号:Q786;S332 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2019)16-0009-05

干旱、低温和高盐等非生物逆境胁迫是农业生产中严重的自然灾害,严重影响了植物的生长发育及农作物的产量。为了适应和抵消非生物胁迫对自身的影响,植物体建立了一系列信号传导和调控的分子机制,通过相关转录因子的表达进而调节下游基因的大量表达,以提高植物应对逆境胁迫的能力。转录调控因子在植物的生长发育和耐逆抗病过程中发挥着极其重要的调控作用,与逆境相关、参与信号传递途径及基因表达调控过程的转录因子主要包括 5 个家族:MYB、bZIP (basic leucine zippe) 家族、AP2/EREBP 家族、WRKY (因含有高度保守的核心氨基酸序列 WRKYGQK 而命名)、NAC (因其 N 端为保守的大约 150 个氨基酸 NAC 结构域命名)^[1]。

WRKY 是一类锌指型转录因子,主要存在于植物中,不仅在各种生物胁迫防卫反应中发挥作用,也参与调控多种非生物(如机械伤害、低温、干旱等)胁迫反应,但关于 WRKY 在非生物胁迫中的研究没有在生物胁迫中的研究广泛。WRKY 转录因子作为干旱、低温等胁迫应答的主要成分,可与下游基因启动子中的顺式作用元件特异性结合,调节一系列依赖该顺式作用元件的抗逆功能基因以特定的强度在特定的时间与空间表达,进而增强植物对干旱、低温以及高盐等逆境的抗性。因此,传统育种结合转基因操作等方法用以提高植物的胁迫耐受性,培育抗逆植物新种质,选育抗逆新品种,改良农作物的抗逆性,已成为近年来植物抗逆遗传育种研究的热点之一。本文主要综述 WRKY 转录因子的结构、功能,以及近几年来国内外对 WRKY 转录因子的研究进展,并对 WRKY 转录因子在农业培育抗逆转基因植物中的应用进行概括。

收稿日期:2018-05-09

基金项目:国家自然科学基金(编号:31260360);新疆生产建设兵团青年科技创新资金(编号:2011CB001)。

作者简介:司爱君(1981—),女,河南杞县人,硕士,助理研究员,主要从事棉花遗传育种研究。E-mail:siaijun1002@163.com。

通信作者:田琴,硕士,副研究员,主要从事棉花遗传育种研究。E-mail:tq2005@126.com。

1 WRKY 转录因子的结构特点与功能

1.1 WRKY 转录因子的结构域及 W-box(W 盒)元件

高等植物典型的转录因子一般由 4 个功能区域组成,即 DNA 结合域、转录调控域、核定位信号和寡聚化位点。根据转录调控因子的 DNA 结合结构域(DNA-binding domains, DBDs)可将他们分为若干个家族,并以其 DNA 结构域的名字命名,例如 AP2/ERF、WRKY、NAC 等^[1]。在 WRKY 家族中,最主要的结构特点是各成员的 DNA 结合域中都含有至少 1 个 WRKY 结构域,是由 1 段大约 60 个高度保守的氨基酸残基组成的多肽序列,在 WRKY 残基核心序列之后接有 1 个 C₂H₂(C-X₄₋₅-C-X₂₂₋₂₃-H-X₁-H)或 C₂HC(C-X₇-C-X₂₃-H-X₁-C)类型的锌指基序,并且所有成员均含有 7 个绝对保守的氨基酸残基 WRKYGQK^[2-3],由此得名为 WRKY。随后发现在该结构域的 C 端存在锌指结构。另外,WRKY 结构域所对应的编码序列中都含有 1 个位置高度保守的内含子,但是其存在的意义目前还不清楚^[2,4]。也有研究表明,在保守区之外,成员中其余氨基酸组成的同源性并不高,这也可能是不同 WRKY 基因具有调节不同靶基因的结构基础^[5]。WRKY 蛋白质通过特异性地结合靶基因启动子的 W-box 而实现其分子生物学功能^[6-7],W-box 的特定序列是 C/TTGACC/T,是 WRKY 与 DNA 特异结合的最小的共有序列,其中 TGAC 为 W-box 的核心序列。生物信息学和植物转录因子的功能研究都证明与胁迫应答有关的基因启动子区域都含有 1 个或几个 W-box 序列^[6]。由于 WRKY 转录因子结构的多样性,因此 WRKY 蛋白质能够广泛地参与植物基因表达的调控。

1.2 WRKY 转录因子的多样化功能

植物在生长过程中不仅会面临病害等生物逆境的胁迫,还会遭遇干旱、冷害及高温等非生物逆境的胁迫。在长期的进化过程中,植物形成了自身防御系统以抵御来自外界的伤害,越来越多的报道表明关于 WRKY 转录因子的这个多基因家族在植物防卫反应的转录调控中发挥重要的作用。WRKY

基因在植物体内是诱导型表达的,目前已识别和克隆的 WRKY 基因的表达受多种不同环境条件的诱导,如病原体、真菌诱导子、高盐、干旱、低温、创伤、营养不足、衰老、种子和毛状体发育、胚胎发生、机械胁迫、各种病程相关信号分子、植物不同发育阶段及植物代谢等,其表达具有快速、瞬时等特点,同时还具有组织特异性。针对非生物逆境的胁迫,植物发展了一套非常复杂而完善的调控网络,WRKY 基因家族在此调控网络中起着重要的调控作用。然而,WRKY 转录因子在非生物胁迫中的作用研究得还不够深入和广泛,远远落后于其在生物胁迫的研究,这可能是由于非生物胁迫信号通路非常复杂,且缺少相关突变体造成的^[8],并且关于 WRKY 转录因子的研究大多集中于拟南芥、水稻和烟草等模式植物,而在重要经济作物中研究较少。近几年,对 WRKY 的非生物胁迫的研究也成为近几年来生物研究的热点。WRKY 被证明是许多信号通路重要的成分,包括脱落酸(ABA)、水杨酸(SA)、茉莉酸(JA)/乙烯(ET)、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、钙调蛋白、组蛋白去乙酰酶^[9-10]等,在各种应激信号通路中与不同的蛋白质相互作用起着多种功能作用,尽管它们的相互作用方式还有待确定。

2 WRKY 转录因子对非生物胁迫的应答与转录调控机制

2.1 WRKY 转录因子在非生物逆境胁迫下的表达模式

植物的非生物胁迫主要包括干旱、盐害、高温、低温等因素,WRKY 蛋白质通过复杂的信号转导途径参与植物的非生物胁迫应答,并具有重要的调控作用。与生物胁迫研究相比,关于 WRKY 转录因子参与非生物胁迫应答的研究相对较少。最近的研究表明,很多 WRKY 基因能强烈而迅速地响应某些非生物胁迫,如机械伤害、干旱、盐害、低温和渗透胁迫,且单个 WRKY 基因可能同时参与多种逆境应答反应。

NaCl 胁迫处理的基因芯片及 qRT-PCR 分析显示,拟南芥根部有 18 个 *AtWRKY* 基因诱导表达^[11]。*WRKY57* 在干旱胁迫下表达量提高,它通过提高 ABA 水平增加拟南芥的耐旱性^[12]。用 NaCl 处理过的拟南芥,*AtWRKY25* 和 *AtWRKY33* 的表达量都有所提高,进一步研究表明,无论是 *AtWRKY25* 还是 *AtWRKY33* 的超表达都能提高拟南芥植株的耐盐能力^[13]。拟南芥 *WRKY25*、*WRKY26*、*WRKY33* 和 *WRKY39* 基因参与植物的热胁迫应答反应,*AtWRKY25* 和 *AtWRKY33* 能够被 ABA、干旱和高盐诱导,*Atwrky25* 单突变体和 *Atwrky25Atwrky33* 双突变体都对高盐敏感^[14-15];而超表达 *AtWRKY25* 和 *AtWRKY33* 能够增加植株的高盐抗性^[15]。在烟草中过量表达 *TaWRKY10*,提高了转基因植株的干旱及耐盐受性,表明该基因受多重胁迫的诱导表达^[16]。*AtWRKY70* 和 *AtWRKY54* 的单突变体能增强其对渗透胁迫的耐受性,双突变体明显地增强这一特性,同时它们还表现出对干旱、高盐、低温胁迫的耐受性^[17]。Hu 等发现 *AtWRKY8* 与 *VQ9* 通过相互拮抗调控植物的耐盐性,盐胁迫使得 *AtWRKY8* 基因表达量上调,突变体则表现出对盐敏感的表现型,相反 *vq9* 突变体则表现出耐盐性^[18]。在植株的生长和发育过程中,*Atwrky63* 突变体对 ABA 处理表现出超敏反应,由于气孔的闭合对 ABA 不敏感,该突变体还表现出不耐旱^[19]。将 *TaWRKY79* 转入拟南芥,该植株受 NaCl 和 ABA 的诱导,表现出对盐、离子胁迫和 ABA 的耐受性,并检测到 ABA

相关基因 *ABA1*、*ABA2*、*ABI1* 和 *ABI5* 表达量上调,也进一步表明该转录因子依赖于 ABA 信号途径发挥作用^[20]。Babitha 等研究发现,*AtbHLH17* 和 *AtWRKY28* 基因在干旱和氧化应激条件下表达量升高,转基因株系表现出对 NaCl、甘露醇和氧化应激的耐受性增强,过表达转基因株系的几个下游靶基因在多种应激条件下上调^[21]。另有研究表明,*AtWRKY18*、*AtWRKY40* 和 *AtWRKY60* 与 ABA 信号相关,并且在种子萌发期和萌发后期,它们作为 ABA 信号的负调控因子发挥作用,其中,*AtWRKY40* 是 3 个 WRKY 蛋白质的负调控中心,它通过结合几个重要的 ABA 响应基因启动子区域的 W-box 从而直接抑制 ABA 相关基因的表达^[22]。越来越多的研究表明,WRKY 基因参与伤害、干旱、高温、低温等多种非生物胁迫应答反应^[7,9,12,14-15,23-26]。

2.2 WRKY 转录因子下游靶基因的鉴定

为了更好地研究 WRKY 转录因子的生物学功能及可能参与的信号通路,鉴定其下游靶基因变得很有必要。通过比较分析基因芯片不同基因型的表达模式,可以从基因组规模上获得潜在的 WRKY 基因的靶基因。举例来讲,*Atwrky34-1* 突变体在 4℃ 低温处理 48 h 后,有 12 个基因在成熟花粉中的表达与野生型有显著差异^[24]。基因芯片分析也证实了与野生型相比,几个 ABA 信号通路基因(如 *AtABI5*、*AtABI3*)的表达在 *Atwrky2* 突变体中显著增强^[27]。通过 cDNA-AFLP 试验证实了 *FRK1/SIRK* 是 *AtWRKY6* 的靶基因,这些基因在植物叶片衰老过程中协同作用^[28]。这些方法也可以用来鉴定其他参与非生物胁迫 WRKY 基因的下游靶基因。然而这些方法只能提供给我们一些候选的靶基因,这些基因是否是 WRKY 蛋白质的直接靶基因还需试验确定,所以还需要进一步用其他方法确定其直接靶基因,如染色质免疫共沉淀技术(ChIP),ChIP 技术已经被证实是一种有效的动态条件下检测生物体内 DNA-蛋白质和蛋白质-蛋白质相互作用的方式^[29]。通过使用这种技术,已有越来越多的 WRKY 转录因子在非生物逆境胁迫下的靶基因被鉴定。如一些重要的 ABA 信号通路中的调控基因,*AtABF4*、*AtAB14*、*AtABI5*、*AtDREB1A*、*AtMYB2* 和 *AtRAB18* 已被证实与 *AtAD1A*(*AtWRKY40*)启动子上游的 W 盒序列直接相互作用^[22]。*AtWRKY6* 和 *AtWRKY42* 都可以通过结合到 *AtPHO1* 的启动子的 W 盒序列而直接抑制 *AtPHO* 的表达^[30]。通过染色质免疫共沉淀发现,早期干旱和 ABA 诱导旋蒴苣苔(*Boea hygrometrica*) *BhWRKY1* 在植物体内可以特异地结合到 *BhGolS1* 基因启动子序列 4 个 W 盒上^[31]。通过鉴定 WRKY 转录因子下游的直接作用基因,可以帮助我们了解胁迫诱导下植物的信号通路作用机制。考虑到大量的 WRKY 蛋白质及其在不同信号通路中的不同作用,仍需要大量工作来鉴定其靶基因相应的应答途径。

值得一提的是,许多研究显示 WRKY 转录因子可以结合到自身启动子序列的 W 盒上进行自调节和交叉调节。染色质免疫沉淀(ChIP)研究显示 *PcWRKY1* 能结合其自身以及 *PcWRKY3* 启动子的 W 盒^[32]。凝胶迁移阻滞试验(EMSA)显示 *AtWRKY18* 和 *AtWRKY40* 都可以识别 *AtWRKY60* 基因上游启动子的 W 盒序列,同时激活 *AtWRKY60* 在原生质体中的表达,表明 *AtWRKY60* 可能是 ABA 信号通路中 *AtWRKY18* 和

AtWRKY40 的直接靶基因^[33]。最近,ChIP-qPCR 试验又证明 *AtWRKY33* 可以通过直接结合在自身的启动子序列上调节自身的表达^[34],结果表明,WRKY 转录因子之间普遍存在着自调节与交叉调节。

2.3 WRKY 转录因子互作蛋白质的鉴定

为了研究 WRKY 转录因子是如何参与到复杂的植物逆境胁迫反应中的,利用酵母双杂交技术筛选或其他技术进行蛋白质相互作用的鉴定是非常有必要的。已有许多 WRKY 转录因子被证实是重要的信号通路中的组成部分,然而它们的相互作用方式还有待确定。到目前为止,已有研究证实 WRKY 转录因子在各种信号通路中与不同的蛋白质结合(如 MAP 激酶、MAP 激酶激酶、组蛋白去乙酰化酶、钙调蛋白等),从而行使多种功能作用^[8,35]。在胁迫响应和信号转导过程中,WRKY 转录因子被各种磷酸化 MAPKs,最终调节植物胁迫应答基因的激活。*AtWRKY38* 和 *AtWRKY62* 共同作用于组蛋白脱乙酰酶 HDA19,最终调节植物防御反应。因此,组蛋白脱乙酰酶可能在植物胁迫反应中维持组蛋白的适当乙酰化状态上发挥重要作用。WRKY 转录因子还能形成具有功能的同源或异源二聚体发挥它们的作用,不同 WRKY 转录因子之间的异二聚体形成可能对它们 DNA 结合活性有正面或负面的影响^[9,36]。在非生物逆境的研究中,有研究表明 WRKY 转录因子通过蛋白质-蛋白质进行相互作用,如 *AtWRKY6* 基因可与同源基因 *AtWRKY42* 在内的十几种蛋白质相互作用,过表达这 2 个基因都能诱导 *ProPHO1:GUS* 强烈表达。此外,在低磷条件下,*AtWRKY6* 与未知蛋白相互作用可被 26S 蛋白酶泛素化降解^[30]。除了蛋白质之间的相互作用,在拟南芥中 *AtWRKY18*、*AtWRKY40* 和 *AtWRKY60* 作为 ABA 受体,也可以与镁原卟啉 IX 螯合酶 H 亚基(CHLH/ABAR)形成复合体^[22,36]。综上所述,鉴定 WRKY 转录因子的互作蛋白质有助于识别 WRKY 蛋白质在信号通路中所发挥的作用。

3 WRKY 转录因子在非生物胁迫抗逆育种中的应用

近年来,越来越多的 WRKY 基因被报道参与非生物逆境应答,不仅包括模式植物拟南芥及烟草,还包括水稻、小麦、大麦、葡萄、大豆、棉花、茄子、黄瓜、甜高粱、甜菜、菜豆、灌木等多种作物,且大多数已通过基因敲除或过表达的方式进一步验证了其在植物非生物胁迫中的调控作用。从 4℃ 处理的水稻 cDNA 文库中分离出 13 个 WRKY 基因,Northern 印迹分析显示,其中 10 个 *OsWRKY* 基因在 NaCl、PEG、低温(4℃)及高温(42℃)非生物胁迫处理中差异表达^[37]。在热击启动子 Hsp101 驱动下 *OsWRKY11* 过表达可以提高水稻的耐热性和耐旱性^[38]。*OsWRKY45* 的过表达提高了拟南芥转化植株的抗盐抗旱性,同时也提高了植株的抗病能力^[39]。*OsWRKY74* 的过表达不仅显著增强转基因植株对 P 缺乏的耐受性,还表现出比 WT 植物更多的 Fe 积累及冷应答基因的上调,说明 *OsWRKY74* 在调节磷稳态与铁缺乏以及水稻冷胁迫中起着重要作用^[40]。小麦中分离的 15 个 WRKY 基因中有 8 个在低温、高温、NaCl 及 PEG 处理下诱导表达^[41]。小麦 *TaWRKY1* 和 *TaWRKY33* 的过表达能激活逆境胁迫相关的下游基因,不仅能提高发芽率,而且促进了拟南芥根的生长^[42]。大麦 *WRKY38* 基因在冷害和干旱胁迫中表达,表明其参与调控冷

害和干旱胁迫信号途径^[43]。过表达葡萄 *VvWRKY11* 的拟南芥幼苗受甘露醇诱导增加了对水分胁迫的耐受性^[44]。将大豆 *GmWRKY21*、*GmWRKY54*、*GmWRKY13* 在拟南芥中异源表达,与野生型植株相比,*GmWRKY21* 转基因植株的耐冷性增强,*GmWRKY54* 转基因植株的抗盐抗旱能力增强;而 *GmWRKY13* 的过表达增加了拟南芥对盐和旱的敏感性,减少了对 ABA 的敏感性^[45]。与野生型相比,过表达大豆 *GmWRKY20* 的拟南芥转基因植株表现出对 ABA 更为敏感,并增强了其干旱胁迫耐受性^[26]。*GmWRKY47* 和 *GmWRKY58* 基因的表达受干旱及高盐的调节^[46]。*GhWRKY41* 在烟草中过表达能增强烟草的干旱和盐胁迫耐受性^[47]。*GhWRKY25* 在本氏烟草中的过表达降低了植物对于干旱胁迫的耐受性,增强了对盐胁迫的耐受性^[48]。*GhWRKY34* 在拟南芥中过表达能增强转基因植株对盐胁迫的耐受性^[49]。Ding 等鉴定出 112 种雷蒙德氏棉和 109 种亚洲棉的 WRKY 基因,并对参与特定纤维发育过程的 WRKY 基因及其表达模式进行了分析^[50]。Yang 等对茄子中(*Solanum melongena* L.)的 50 个 WRKY 基因及水茄(*Solanum torvum*)中的 62 个 WRKY 基因进行了初步功能分析^[51]。在棉花中,*GhWRKY44* 不仅正向调节病原体诱导的植物病害抗性,而且其表达还能被非生物胁迫和不同信号分子诱导^[52]。孔维龙等基于甜菜基因组信息分析了盐胁迫和热胁迫下甜菜 WRKY 基因家族(Bv WRKYs)的组织特异性表达谱和表达模式^[53]。水稻 *OsWRKY71* 响应于冷胁迫表达量上调,其启动子受冷诱导表达,并通过调节下游靶基因在耐冷中起着正调控作用^[54]。黄瓜 *CsWRKY46* 赋予转基因植物耐寒性并依赖 ABA 正向调节冷信号传导途径^[55]。甜高粱 *SbWRKY1* 和 *SbWRKY2* 基因在干旱胁迫时期均表达上调,说明这 2 个基因可能在甜高粱的干旱胁迫中发挥作用^[56]。Wu 等从 G19833 菜豆的基因组序列草图中鉴定了 88 个完整的 PvWRKY 蛋白质,并使用 qRT-PCR 检测了 19 个对于干旱胁迫有反应的 WRKY 基因,其中 11 种下调,8 种在干旱胁迫下上调^[57]。随着分子生物学技术的发展及植物遗传转化技术的建立,WRKY 基因将广泛应用于农业育种。

4 展望

在过去的十几年中,相关研究报道详细阐述了 WRKY 转录因子超家族子参与多种生物胁迫反应、植物生长发育和生理反应,包括胚胎发育、种皮形成、毛状体发育、叶片衰老调控、生物合成途径调控和激素信号传递等^[58]。鉴于 WRKY 家族的多样化功能,关于 WRKY 转录因子在非生物逆境如干旱、低温和营养缺乏条件下的功能研究将会越来越多,且试验材料不再限于模式植物,而是扩展到了各类植物,尤其是作物中的研究。此外,植物的耐逆性状是多基因控制的复杂性状,转录因子不仅可以调控多个与同类性状有关基因的表达,还能通过增强一些关键的调节因子的作用来促进这些耐逆相关基因的作用。因此,通过转基因技术将转录因子转入植物是一种更为有效的方法和途径,可使植物获得综合抗逆的根本改良,此方法对于培育植物抗逆品种,特别是培育抗旱、抗盐和抗寒的植物品种具有重要意义。

得益于生理学、化学遗传学、分子计算学和信息生物学等领域技术的飞速发展,能详细了解到 WRKY 转录因子对植物

非生物胁迫反应各个方面的复杂机制。借助于基因功能获得和功能缺失的突变体技术和转基因技术,WRKY 转录因子的具体功能将会被人们所熟知。为了更好地了解它们在非生物胁迫中的作用,识别相互作用共同调节下游靶基因转录的 WRKY 蛋白质非常重要。随着科学技术的不断突破,WRKY 转录因子在植物生命进程的信号调控网络将逐渐清晰地呈现出来。采用酵母双元杂交系统及染色质免疫亲和沉淀分析等方法,可分析 WRKY 转录因子在应答不同信号途径的特异性 DNA 结合位点,解析 WRKY 蛋白质特异调控靶基因表达的方式,并有效阐明 WRKY 基因参与调控靶基因表达的分子机制。这方面的研究对植物的分子改良具有重要的理论和实际意义,对农业生产具有很大益处。

参考文献:

- [1] Yamasaki K, Kigawa T, Inoue M, et al. Structures and evolutionary origins of plant – specific transcription factor DNA – binding domains [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2008, 46(3):394 – 401.
- [2] Eulgem T, Rushton P J, Robatzek S, et al. The WRKY superfamily of plant transcription factors[J]. Trends in Plant Science, 2000, 5(5):199 – 206.
- [3] Rushton P J, Torres J T, Parniske M, et al. Interaction of elicitor – induced DNA – binding proteins with elicitor response elements in the promoters of parsley *PRI* genes [J]. The EMBO Journal, 1996, 15(20):5690 – 5700.
- [4] Wu K L, Guo Z J, Wang H H, et al. The WRKY family of transcription factors in rice and *Arabidopsis* and their origins [J]. DNA Research, 2005, 12(1):9 – 26.
- [5] Ross C A, Liu Y E, Shen Q J. The WRKY gene family in rice (*Oryza sativa*) [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2007, 49(6):827 – 842.
- [6] Maleck K, Levine A, Eulgem T, et al. The transcriptome of *Arabidopsis thaliana* during systemic acquired resistance [J]. Nature Genetics, 2000, 26(4):403 – 410.
- [7] Hara K, Yagi M, Kusano T, et al. Rapid systemic accumulation of transcripts encoding a tobacco WRKY transcription factor upon wounding [J]. Molecular & General Genetics, 2000, 263(1):30 – 37.
- [8] Rushton P J, Somssich I E, Ringler P, et al. WRKY transcription factors [J]. Trends in Plant Science, 2010, 15(5):247 – 258.
- [9] Chen H, Lai Z, Shi J, et al. Roles of arabidopsis WRKY18, WRKY40 and WRKY60 transcription factors in plant responses to abscisic acid and abiotic stress [J]. BMC Plant Biology, 2010, 10:281.
- [10] Dietz K J, Vogel M O, Viehhauser A. AP2/EREBP transcription factors are part of gene regulatory networks and integrate metabolic, hormonal and environmental signals in stress acclimation and retrograde signalling [J]. Protoplasma, 2010, 245(1/2/3/4):3 – 14.
- [11] Jiang Y, Deyholos M K. Comprehensive transcriptional profiling of NaCl – stressed *Arabidopsis* roots reveals novel classes of responsive genes [J]. BMC Plant Biology, 2006, 6:25.
- [12] Jiang Y, Liang G, Yu D. Activated expression of WRKY57 confers drought tolerance in *Arabidopsis* [J]. Molecular Plant, 2012, 5(6):1375 – 1388.
- [13] Jiang Y Q, Deyholos M K. Functional characterization of *Arabidopsis* NaCl – inducible WRKY25 and WRKY33 transcription factors in abiotic stresses [J]. Plant Molecular Biology, 2009, 69(1/2):91 – 105.
- [14] Li S, Zhou X, Chen L, et al. Functional characterization of *Arabidopsis thaliana* WRKY39 in heat stress [J]. Molecules and Cells, 2010, 29(5):475 – 483.
- [15] Li S J, Fu Q T, Chen L G, et al. *Arabidopsis thaliana* WRKY25, WRKY26, and WRKY33 coordinate induction of plant thermotolerance [J]. Planta, 2011, 233(6):1237 – 1252.
- [16] Wang C, Deng P, Chen L, et al. A wheat WRKY transcription factor TaWRKY10 confers tolerance to multiple abiotic stresses in transgenic tobacco [J]. PLoS One, 2013, 8(6):e65120.
- [17] Li J, Besseau S, Törönen P, et al. Defense – related transcription factors WRKY70 and WRKY54 modulate osmotic stress tolerance by regulating stomatal aperture in *Arabidopsis* [J]. The New Phytologist, 2013, 200(2):457 – 472.
- [18] Hu Y R, Chen L G, Wang H P, et al. *Arabidopsis* transcription factor WRKY8 functions antagonistically with its interacting partner VQ9 to modulate salinity stress tolerance [J]. Plant Journal, 2013, 74(5):730 – 745.
- [19] Ren X Z, Chen Z Z, Liu Y E, et al. ABO3, a WRKY transcription factor, mediates plant responses to abscisic acid and drought tolerance in *Arabidopsis* [J]. Plant Journal, 2010, 63(3):417 – 429.
- [20] Qin Y X, Tian Y C, Han L, et al. Constitutive expression of a salinity – induced wheat WRKY transcription factor enhances salinity and Ionic stress tolerance in transgenic *Arabidopsis thaliana* [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2013, 441(2):476 – 481.
- [21] Babitha K C, Ramu S V, Pruthvi V, et al. Co – expression of *AtbHLH17*, and *AtWRKY28* confers resistance to abiotic stress in *Arabidopsis* [J]. Transgenic Research, 2013, 22(2):327 – 341.
- [22] Shang Y, Yan L, Liu Z Q, et al. The Mg – Chelatase H subunit of *Arabidopsis* antagonizes a group of WRKY transcription repressors to relieve ABA – Responsive genes of inhibition [J]. Plant Cell, 2010, 22(6):1909 – 1935.
- [23] Li S J, Fu Q T, Huang W D, et al. Functional analysis of an *Arabidopsis* transcription factor WRKY25 in heat stress [J]. Plant Cell Reports, 2009, 28(4):683 – 693.
- [24] Zou C S, Jiang W B, Yu D Q. Male gametophyte – specific WRKY34 transcription factor mediates cold sensitivity of mature pollen in *Arabidopsis* [J]. Journal of Experimental Botany, 2010, 61(14):3901 – 3914.
- [25] Ray S, Dansana P K, Giri J A, et al. Modulation of transcription factor and metabolic pathway genes in response to water – deficit stress in rice [J]. Functional & Integrative Genomics, 2011, 11(1):157 – 178.
- [26] Luo X, Bai X, Sun X, et al. Expression of wild soybean WRKY20 in *Arabidopsis* enhances drought tolerance and regulates ABA signalling [J]. Journal of Experimental Botany, 2013, 64(8):2155 – 2169.
- [27] 江文波, 余迪求. 拟南芥 WRKY2 转录调控因子可能参与调控渗透胁迫反应 [J]. 云南植物研究, 2009, 31(5):427 – 432.
- [28] Robatzek S, Somssich I E. Targets of *AtWRKY6* regulation during plant senescence and pathogen defense [J]. Genes & Development, 2002, 16(9):1139 – 1149.

- [29] Orlando V. Mapping chromosomal proteins *in vivo* by formaldehyde – crosslinked – chromatin immunoprecipitation [J]. Trends in Biochemical Sciences, 2000, 25(3): 99.
- [30] Chen Y F, Li L Q, Xu Q, et al. The WRKY6 transcription factor modulates *PHOSPHATE1* expression in response to low Pi stress in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 2009, 21(11): 3554 – 3566.
- [31] Wang Z, Zhu Y, Wang L, et al. A WRKY transcription factor participates in dehydration tolerance in *Boea hygrometrica* by binding to the W – box elements of the galactinol synthase (*BhGolSI*) promoter [J]. Planta, 2009, 230(6): 1155 – 1166.
- [32] Turck F, Zhou A, Somssich I E. Stimulus – dependent, promoter – specific binding of transcription factor WRKY1 to its native promoter and the defense – related gene *PcPRI – I* in parsley [J]. Plant Cell, 2004, 16(10): 2573 – 2585.
- [33] Chen L G, Zhang L P, Yu D Q. Wounding – Induced WRKY8 is involved in basal defense in *Arabidopsis* [J]. Molecular Plant – Microbe Interactions, 2010, 23(5): 558 – 565.
- [34] Mao G H, Meng X Z, Liu Y D, et al. Phosphorylation of a WRKY transcription factor by two Pathogen – Responsive MAPKs drives phytoalexin biosynthesis in *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 2011, 23(4): 1639 – 1653.
- [35] Agarwal P, Reddy M P, Chikara J. WRKY: its structure, evolutionary relationship, DNA – binding selectivity, role in stress tolerance and development of plants [J]. Molecular biology reports, 2011, 38(6): 3883 – 3896.
- [36] Xu X P, Chen C H, Fan B F, et al. Physical and functional interactions between pathogen – induced *Arabidopsis* WRKY18, WRKY40, and WRKY60 transcription factors [J]. Plant Cell, 2006, 18(5): 1310 – 1326.
- [37] 仇玉萍, 荆邵娟, 付 坚, 等. 13 个水稻 *WRKY* 基因的克隆及其表达谱分析 [J]. 科学通报, 2004, 49(18): 1860 – 1869.
- [38] Wu X, Shiroto Y, Kishitani S, et al. Enhanced heat and drought tolerance in transgenic rice seedlings overexpressing *OsWRKY11* under the control of *HSP101* promoter [J]. Plant Cell Reports, 2009, 28(1): 21 – 30.
- [39] Qiu Y P, Yu D Q. Over – expression of the stress – induced *OsWRKY45* enhances disease resistance and drought tolerance in *Arabidopsis* [J]. Environmental and Experimental Botany, 2009, 65(1): 35 – 47.
- [40] Dai X Y, Wang Y Y, Zhang W H. *OsWRKY74*, a WRKY transcription factor, modulates tolerance to phosphate starvation in rice [J]. Journal of Experimental Botany, 2016, 67(3): 947 – 960.
- [41] Hua L, Zhong F, Ying Y, et al. Cloning and expression profiles of 15 genes encoding WRKY transcription factor in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. Progress in Natural Science, 2008, 18(6): 697 – 705.
- [42] He G H, Xu J Y, Wang Y X, et al. Drought – responsive WRKY transcription factor genes *TaWRKY1* and *TaWRKY33* from wheat confer drought and/or heat resistance in *Arabidopsis* [J]. BMC Plant Biology, 2016, 16: 116.
- [43] Mare C, Mazzucotelli E, Crosatti C, et al. Hv – WRKY38: a new transcription factor involved in cold – and drought – response in barley [J]. Plant Molecular Biology, 2004, 55(3): 399 – 416.
- [44] Liu H Y, Yang W L, Liu D C, et al. Ectopic expression of a grapevine transcription factor *VvWRKY11* contributes to osmotic stress tolerance in *Arabidopsis* [J]. Molecular Biology Reports, 2011, 38(1): 417 – 427.
- [45] Zhou Q Y, Tian A G, Zou H F, et al. Soybean WRKY – type transcription factor genes, *GmWRKY13*, *GmWRKY21*, and *GmWRKY54*, confer differential tolerance to abiotic stresses in transgenic *Arabidopsis* plants [J]. Plant Biotechnology Journal, 2008, 6(5): 486 – 503.
- [46] Song H, Wang P F, Hou L, et al. Global analysis of *WRKY* genes and their response to dehydration and salt stress in soybean [J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 9.
- [47] Chu X, Wang C, Chen X, et al. The cotton WRKY gene *GhWRKY41* positively regulates salt and drought stress tolerance in transgenic *Nicotiana benthamiana* [J]. PLoS One, 2015, 10(11): e0143022.
- [48] Liu X F, Song Y Z, Xing F Y, et al. *GhWRKY25*, a group I WRKY gene from cotton, confers differential tolerance to abiotic and biotic stresses in transgenic *Nicotiana benthamiana* [J]. Protoplasma, 2016, 253(5): 1265 – 1281.
- [49] Zhou L, Wang N N, Gong S Y, et al. Overexpression of a cotton (*Gossypium hirsutum*) WRKY gene, *GhWRKY34*, in *Arabidopsis* enhances salt – tolerance of the transgenic plants [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2015, 96: 311 – 320.
- [50] Ding M Q, Chen J D, Jiang Y R, et al. Genome – wide investigation and transcriptome analysis of the WRKY gene family in *Gossypium* [J]. Molecular Genetics and Genomics, 2015, 290(1): 151 – 171.
- [51] Yang X, Deng C, Zhang Y, et al. The WRKY transcription factor genes in eggplant (*Solanum melongena* L.) and Turkey berry (*Solanum torvum* Sw.) [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2015, 16(4): 7608 – 7626.
- [52] Li J, Wang J, Wang N X, et al. *GhWRKY44*, a WRKY transcription factor of cotton, mediates defense responses to pathogen infection in transgenic *Nicotiana benthamiana* [J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2015, 121(1): 127 – 140.
- [53] 孔维龙, 于 坤, 但乃震, 等. 甜菜 WRKY 转录因子全基因组鉴定及其在非生物胁迫下的表达分析 [J]. 中国农业科学, 2017, 50(17): 3259 – 3273.
- [54] Kim C Y, Vo K T X, Nguyen C D, et al. Functional analysis of a cold – responsive rice WRKY gene, *OsWRKY71* [J]. Plant Biotechnology Reports, 2016, 10(1): 13 – 23.
- [55] Zhang Y, Yu H J, Yang X E, et al. *CsWRKY46*, a WRKY transcription factor from cucumber, confers cold resistance in transgenic – plant by regulating a set of cold – stress responsive genes in an ABA – dependent manner [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2016, 108: 478 – 487.
- [56] 徐 磊, 胡小文, 姚艳丽, 等. 甜高粱 WRKY 转录因子基因的克隆与表达分析 [J]. 西南农业学报, 2017, 30(11): 2429 – 2435.
- [57] Wu J, Chen J B, Wang L F, et al. Genome – Wide investigation of WRKY transcription factors involved in terminal drought stress response in common bean [J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 8: 380.
- [58] 李元元, 高志强, 曹清河. 甘薯 *SPFI* 转录因子的生物信息学分析 [J]. 江苏农业学报, 2017, 33(4): 760 – 767.