



大豆转录因子 GmWRKY4 分子克隆与表达分析

王昭玉¹, 甄 珍¹, 李雅琳¹, 王翠霞², 刘思敏¹, 郭芸彤¹, 闫瑞娴¹, 刘建凤¹

(1. 河北大学 生命科学院, 河北 保定 071002; 2. 冀州区农牧局, 河北 衡水 053200)

摘 要:为研究 WRKY 家族基因在大豆抵御非生物胁迫中的生物学功能及其作用机制, 利用铁丰 29, 获得了大豆 WRKY 家族基因 *GmWRKY4* 的开放阅读框序列, 并对其在不同非生物胁迫处理下的表达模式进行了分析。结果表明, *GmWRKY4* 开放阅读框为 1 083 bp, 编码 360 个氨基酸残基; 对其编码蛋白 GmWRKY4 进行保守域及同源性分析发现, 属于 WRKY 转录因子家族第 1 类, 与 GsWRKY4 高度同源; 分析 GmWRKY4 与拟南芥 WRKY 转录因子系统进化树发现, 与 *AtWRKY3*、*AtWRKY4* 相似性最高; 进一步分析该基因在盐 (NaCl 处理)、干旱 (PEG 处理) 与低温胁迫处理下的表达模式发现, GmWRKY4 可参与对上述 3 种非生物胁迫的响应; 同时分析基因在乙酰辅酶 A 羧化酶 (ACC)、水杨酸 (SA)、茉莉酸 (JA) 等激素处理下的表达模式发现, GmWRKY4 可通过参与 ACC、SA、JA 信号通路实现对逆境胁迫的响应, 为进一步深入研究该基因生物学功能及其作用机制奠定了基础。

关键词:大豆; *GmWRKY4*; 生物信息学; 非生物胁迫; 激素诱导

Cloning and Expression Analysis of Transcription Factors GmWRKY4 in Soybean

WANG Zhao-yu¹, ZHEN Zhen¹, LI Ya-lin¹, WANG Cui-xia², LIU Si-min¹, GUO Yun-tong¹, YAN Rui-xian¹, LIU Jian-feng¹

(1. College of Life Science, Hebei University, Baoding 071002, China; 2. Agriculture and Animal Husbandry Bureau of Jizhou District, Hengshui 053200, China)

Abstract: In order to understand how WRKY gene family participates in soybean defensive responses and regulating the growth and development of soybean, Tiejing 29 was used as the research material to obtain the open reading frame (ORF) 1 083 bp of soybean gene *GmWRKY4*, which encoded 360 amino acid polypeptide. Further bioinformatics analysis revealed that the amino acid sequence of GmWRKY4 had two structural conserved domains (WRKY) and C2H2 type zinc finger structure, so it belonged to the class I of gene family. The homology of amino acid sequence between GmWRKY4 and GsWRKY was 99%. The phylogenetic tree analysis showed that the GmWRKY4, *Arabidopsis AtWRKY3* and *AtWRKY4* belonged to the same class. It was also found that the GmWRKY4 was involved in responses to different stress, including NaCl, PEG, low-temperature and ACC, SA, JA induction. This study would lay a foundation for the family structure and functional research of soybean WRKY transcription factors, and further provide scientific basis for research of soybean resistance and molecular breeding.

Keywords: *Glycine max*; *GmWRKY4*; Bioinformatics; Abiotic stress; Hormone induction

WRKY 基因家族是植物中的最大转录因子家族之一, 在植物的生物和非生物胁迫反应中起重要的调控作用^[1]。自从 1994 年编码 WRKY 转录因子的基因首次被 Ishiguro 和 Nakamura 在甜薯中克隆获得, 随后大量植物 WRKY 基因家族成员陆续被挖掘并进行了相关分子生物学鉴定^[2]。在模式植物全基因组测序完成及 WRKY 基因进化具有保守序列 (WRKYGQK) 的基础上, 越来越多的 WRKY 基因被发现, 尤其是在拟南芥、大豆及水稻中, WRKY 基因被发掘数量较多, 分别有 74, 197 和 102 个成员^[3]。

序列结构分析表明 WRKY 分为 3 类: G1 类, WRKY 转录因子有 2 个 WRKY 的结构域, 锌指结构为: C(2)H(2)C-X(4-5)-C-X-(22-23)-H-X(1)-H, DNA 的结合作用一般是由处于 C 末端的结构域主导; G2 类, WRKY 转录因子具有 1 个结构域, 与 G1 类相比, G2 中的结构域与处于 C 末端的结构域更加相似, 与处于 N 末端的结构域的相似程度比较低; G3 类, WRKY 转录因子具有 1 个结构域, 锌指结构为 C(2)-HC(C-X(7)-C-X(23)-H-X(1)-C), 与 G2 类相比较, 其 WRKY 结构域与

收稿日期: 2018-02-05

基金项目: 河北大学生命科学院本科教学项目。

第一作者简介: 王昭玉 (1992-), 女, 硕士, 主要从事植物分子生物学研究。E-mail: 1023988344@qq.com。

通讯作者: 刘建凤 (1979-), 女, 博士, 副教授, 主要从事植物逆境胁迫机制研究。E-mail: jianfengliu@hbu.edu.cn。

基因相对应的序列中都有一段高度保守的内含子,但针对其功能的研究相对较少^[4]。WRKY 基因家族不仅具有 WRKY 结构域和锌指结构,WRKY 蛋白还具有转录因子具有的核定位序列和寡聚化位点^[5],同时能够和有 TGAC 核心保守序列的 W 盒特异性结合,实现对位于启动子序列内,且含有 W 盒保守元件的抗病、损伤和衰老等相关基因以及激素诱导基因表达的调控。研究表明,WRKY 转录因子往往通过响应多种信号通路,或调节家族中其它成员的表达,而形成复杂、高效的抗逆调控网络,由此可见,WRKY 转录因子在生物与非生物胁迫过程中具有至关重要的作用^[6]。

近年来随着大豆基因组测序工作的完成,大豆的 WRKY 转录因子的研究逐渐成为热点。相关报道表明,*GmWRKY35* 基因在烟草中能够提高烟草干旱胁迫耐受能力^[7]; *GsWRKY15* 基因的超量表达可提高苜蓿耐碱性^[8]; *OsWRKY7* 可能在水稻激素信号表达过程及应对白叶枯菌防御过程中发挥作用^[9]。由此可见,WRKY 转录因子在植物干旱、盐碱、激素及抗病等方面具有显著作用。为减弱逆境因子对大豆产量及品质的影响,我们对 WRKY 转录因子调控大豆耐旱及耐盐机制进行深入研究及分析,本实验室前期克隆得到 3 个重要的大豆转录因子基因,分别为 *GmWRKY3*、*GmWRKY4*、*GmWRKY71*,通过 Blast 对比,其中 *GmWRKY4* 与拟南芥 *AtWRKY4* 同源性最高,且 *AtWRKY4* 基因参与拟南芥抗逆响应机制,鉴于此,本研究进行大豆转录因子 *GmWRKY4* 基因的克隆及表达分析,以期为大豆抗逆分子育种提供基因资源和重要的科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料为大豆铁丰 29,由辽宁省铁岭市农业科学院提供。RNA 提取试剂盒由北京艾德莱公司提供,DNaseI、RNase Inhibitor (40 U·μL⁻¹)、大肠杆菌 DH5α 感受态细胞、限制性内切酶、反转录试剂盒、DNA Marker、DNA 染料(购于 US Everbright® Inc.) PCR 反应试剂和 SYBR® Premix Ex Taq™ (Perfect Real Time) (TaKaRa Code: DRR041) 均为宝生物公司产品; PCR 片段回收试剂盒为生工生物工程(上海)有限公司产品。

1.2 方法

1.2.1 大豆 *GmWRKY4* 基因 ORF 框的获得 在大豆基因组网站(<https://soybase.org/>)下载大豆基因

WRKY 基因序列。通过搜索 *WRKY* 基因家族的相关基因序列,获得的 *GmWRKY4* 基因 ORF 全长1 080 bp,编码 360 个氨基酸。利用 Trizol 法提取植物总 RNA,利用 TaKaRa 6210A 反转录试剂盒合成 cDNA。PCR 反应体系为: cDNA 模板 1 μL, DNA 聚合酶 0.1 μL, 10 × Buffer 1.0 μL, 10 mmol·L⁻¹ dNTPs 0.8 μL, 10 mmol·L⁻¹ 的基因上下游引物各 0.5 μL, ddH₂O 补至 10 μL 体系。PCR 反应程序为: 94℃ 变性 5 s、95℃ 变性 30 s、60℃ 退火 30 s、72℃ 延伸 2 min, 35 个循环, 72℃ 终延伸 7 min。利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测结果,利用 TaKaRa 胶回收试剂盒 (Code No. 9762) 纯化回收目的条带。将回收的目的片段与 TaKaRa pGM-T Vector 连接,转化大肠杆菌感受态 DH5α, PCR 鉴定的阳性克隆进行测序。引物序列如下: F: GTCGACATGACACACCAGCAGGC; R: GGTACCGGTGATCTGCTCTTCCTTCAACC (苏州金唯智生物科技有限公司)。

1.2.2 生物信息学分析 利用 GenBank 对大豆 *GmWRKY4* 氨基酸列结构进行分析,网址为 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>; 利用 phytozome 网址 (<https://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html>) 对该基因进行染色体的定位; 利用 NCBI 数据库对大豆 *GmWRKY4* 氨基酸列进行同源序列的搜索,并且利用 Dnaman 将同源蛋白序列进行了对比; 利用 Mega 7.0 对大豆 *GmWRKY4* 与拟南芥 *WRKY* 转录因子进行系统进化比较。

1.2.3 不同逆境处理条件下大豆 *GmWRKY4* 的表达特性 在大豆幼苗生长到 5~6 片叶(第 2 个三出复叶)时,选取生长一致的幼苗,分别进行非生物胁迫(4℃ 低温、150 mmol·L⁻¹ NaCl、60% PEG)和外源激素胁迫(2 mmol·L⁻¹ SA、200 μmol·L⁻¹ JA、5 mmol·L⁻¹ ACC),将低温胁迫的大豆幼苗置于 4℃ 冰箱,其它处理分别取 10 mL 相应处理溶剂用喷壶喷洒整株植物叶片表面,然后分别在 0, 2, 4, 8, 12 和 24 h,每个植物取一片叶片,液氮速冻后于 -80℃ 保存备用。

提取上述不同时间、不同处理后植株叶片的 RNA,并反转录得到 cDNA 为模板,以大豆 Actin 为内参 (F: 5'-GTGTCAGCCATACTGTCCCCATTT-3' 和 R: 5'-GTTTCAAGCTCTTGCTCGTAATCA-3') 进行 qRT-PCR,分析 *GmWRKY4* 基因 (F: 5'-GAACATTCATTGACACAGGC-3' 和 R: 5'-CATACTTCCTC-CAGTTGTAGCCT-3') 在不同处理下不同时间的表达模式。反应体系和反应程序参照荧光定量试剂 2 × Fast Super EvaGreen® qPCR Master Mix (货号是

S2008, 购于 US Everbright® Inc.)说明书。生物学重复 3 次,技术重复 3 次,数据采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因的相对表达量^[10]。

2 结果与分析

2.1 大豆 *GmWRKY4* 基因克隆与序列分析

利用设计的特异引物,以 cDNA 为模板扩增获得的片段经测序和对比分析,发现该序列与野生大豆 *GsWRKY4*(ACCESSION:KHN37438)氨基酸序列同源性为 99%,因此命名为 *GmWRKY4*。基因开放阅读框(ORF)1 083 bp,编码 360 个氨基酸的多肽。预测蛋白质的分子量为 40.16 kD,等电点为

8.33。克隆基因序列与参考基因组的同源性为 100%,这说明克隆基因序列与参考基因序列不存在差异。

2.2 大豆 *GmWRKY4* 的生物信息学分析

2.2.1 大豆 *GmWRKY4* 蛋白序列保守域及染色体定位分析 通过 GenBank (CDD—<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>) 分析 *GmWRKY4* 编码的氨基酸序列得知,其有 2 个 WRKY 保守结构域(图 1)故推测其属于 *WRKY* 家族中的 G1 类,并将其定位在 Chr01: 6811293.. 6813458 (2.17 kb)。

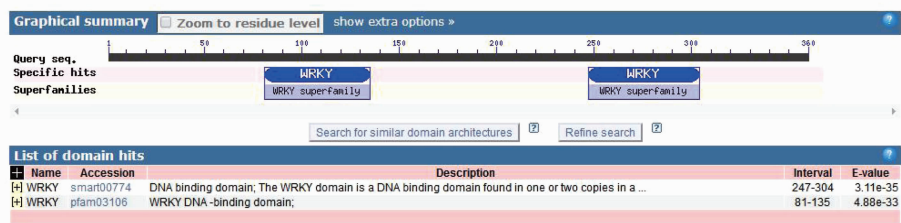


图 1 大豆 *GmWRKY4* 蛋白质序列保守结构域分析

Fig. 1 Analysis of conservative structural domain of *GmWRKY4* protein

2.2.2 大豆 *GmWRKY4* 蛋白质序列同源性比较分析 利用 Blast 对大豆 *GmWRKY4* 蛋白质序列与木豆 *CcWRKY4*、野生大豆 *GsWRKY4*、赤豆 *VaWRKY4*、绿豆 *VrWRKY4* 蛋白质序列进行同源序列比对(图 2)。其中大豆 *GmWRKY4* 蛋白质序列与 *GsWRKY4* 蛋白质序列同源性最高,为 99.00%;其次是 *CcWRKY4* 蛋白质序列,同源性为 86.00%;再次是 *VrWRKY4* 蛋白质序列,同源性为 82%;最后是 *VaWRKY* 蛋白质序列,同源性为 81.00%。*GmWRKY4* 蛋白和其它植物 *WRKY* 蛋白都存在高度保守的 2 个 *WRKYGQK* 残基和 1 个组成为 C2H2 的锌指结构,属于 *WRKY* 转录因子家族的第 I 组成员。

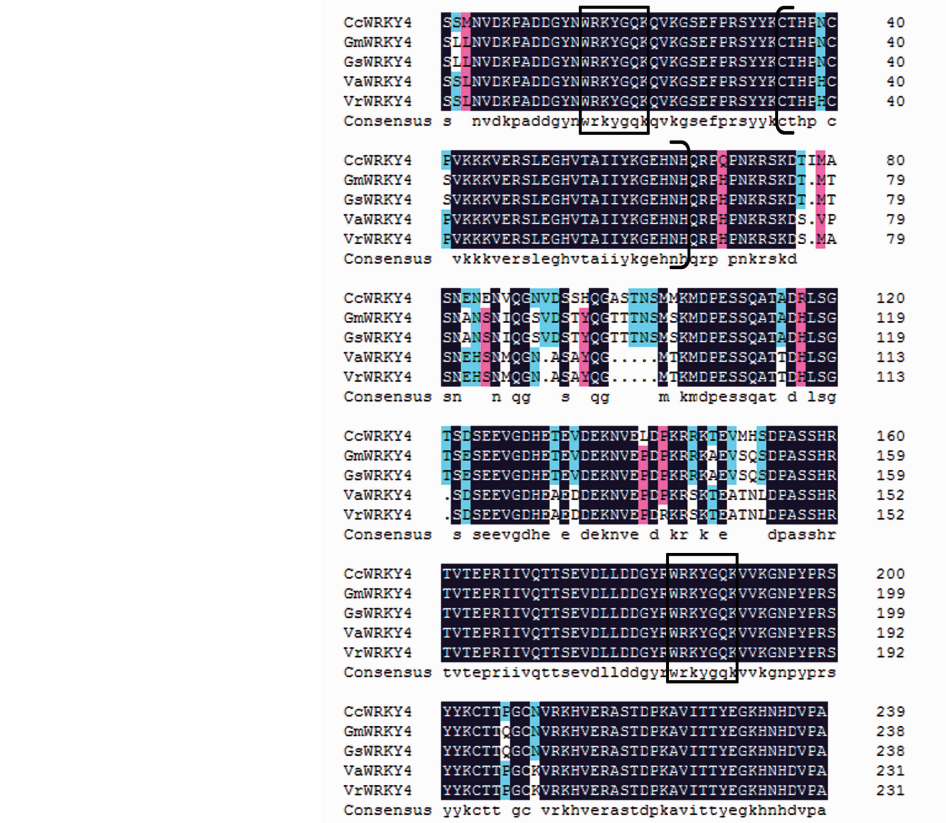
2.2.3 大豆 *GmWRKY4* 与拟南芥 *WRKY* 转录因子的进化 由于拟南芥是模式植物,且其 *WRKY* 基因家族成员功能研究较深入,故将大豆 *GmWRKY4* 与拟南芥 *WRKY* 转录因子成员进行比对分析,系统进化树结果表明,大豆 *GmWRKY4* 与 *AtWRKY3*、*AtWRKY4* 聚类在同一分支下(图 3),这说明大豆 *GmWRKY4* 与 *AtWRKY3*、*AtWRKY4* 相似度最高,亲缘关系最近,可能具有与拟南芥中 *WRKY3*、*WRKY4* 基因相似的抵御生物及非生物胁迫的功能有关。

2.3 不同处理后 *GmWRKY4* 基因表达分析

150 mmol·L⁻¹ NaCl、60% PEG、低温胁迫诱导

后,*GmWRKY4* 基因表达量呈现明显降低而后增加的变化趋势(图 4A、4B、4C)。3 种非生物胁迫处理下,*GmWRKY4* 基因表达量在 4 h 时开始下降,12 h 时达到最低水平,随后在 24 h 表达量明显升高。非生物胁迫处理 24 h 后,NaCl 处理大豆的 *GmWRKY4* 基因表达量较最初水平(0 h)增加 40%,达到显著性差异($P < 0.05$);PEG 处理大豆的 *GmWRKY4* 基因表达量比最初水平(0 h)降低 30%,达到显著性差异($P < 0.05$);低温处理大豆的 *GmWRKY4* 基因表达量比最初水平(0 h)仅降低 10%,未达到显著性差异。由此,*GmWRKY4* 基因可以参与 NaCl、PEG、低温非生物胁迫的响应。

激素 ACC、SA、JA 胁迫诱导后,4~12 h 内 *GmWRKY4* 基因表达量均出现下降趋势,在 24 h 时,ACC、JA 诱导处理后 *GmWRKY4* 基因表达量与最初水平(0 h)相比,分别增加 60%、20%,且 ACC 诱导处理基因表达量与最初水平间具有显著性差异,而 SA 诱导处理后 *GmWRKY4* 基因表达量与最初水平相比降低 60%,达到显著性差异($P < 0.05$)。因此,*GmWRKY4* 基因可以通过参与 ACC、SA、JA 信号通路实现对逆境胁迫的响应。



黑色标记处分别为 WRKY 保守结构域、锌指结构和 WRKY 保守结构域。
The black markers were WRKY conserved domain , zinc finger structure and WRKY conserved domain.

图2 大豆 GmWRKY4 蛋白与其它植物 CcWRKY4、GsWRKY4、VaWRKY4 和 VrWRKY4 蛋白的同源对比

Fig.2 Alignment of the deduced protein of GmWRKY4 with other plant WRKY proteins

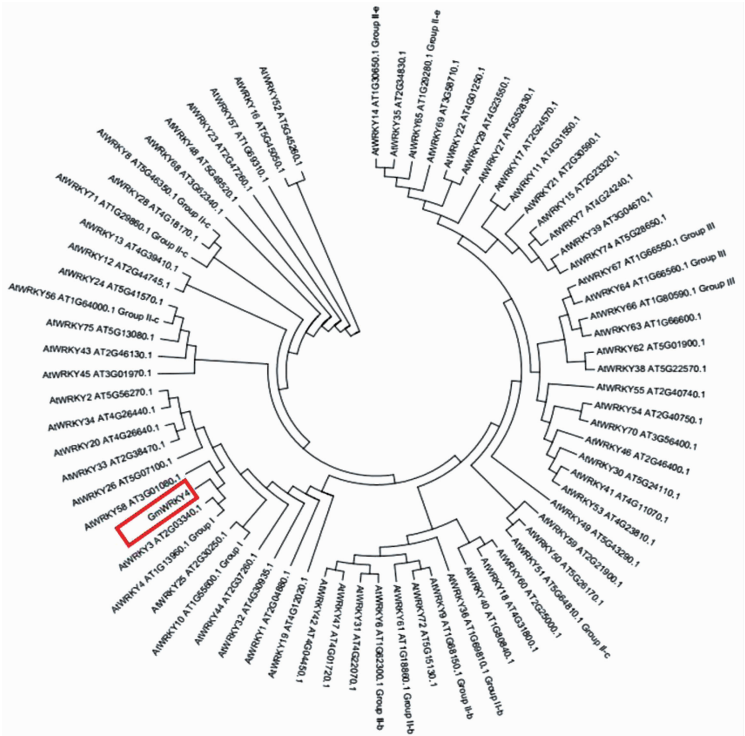
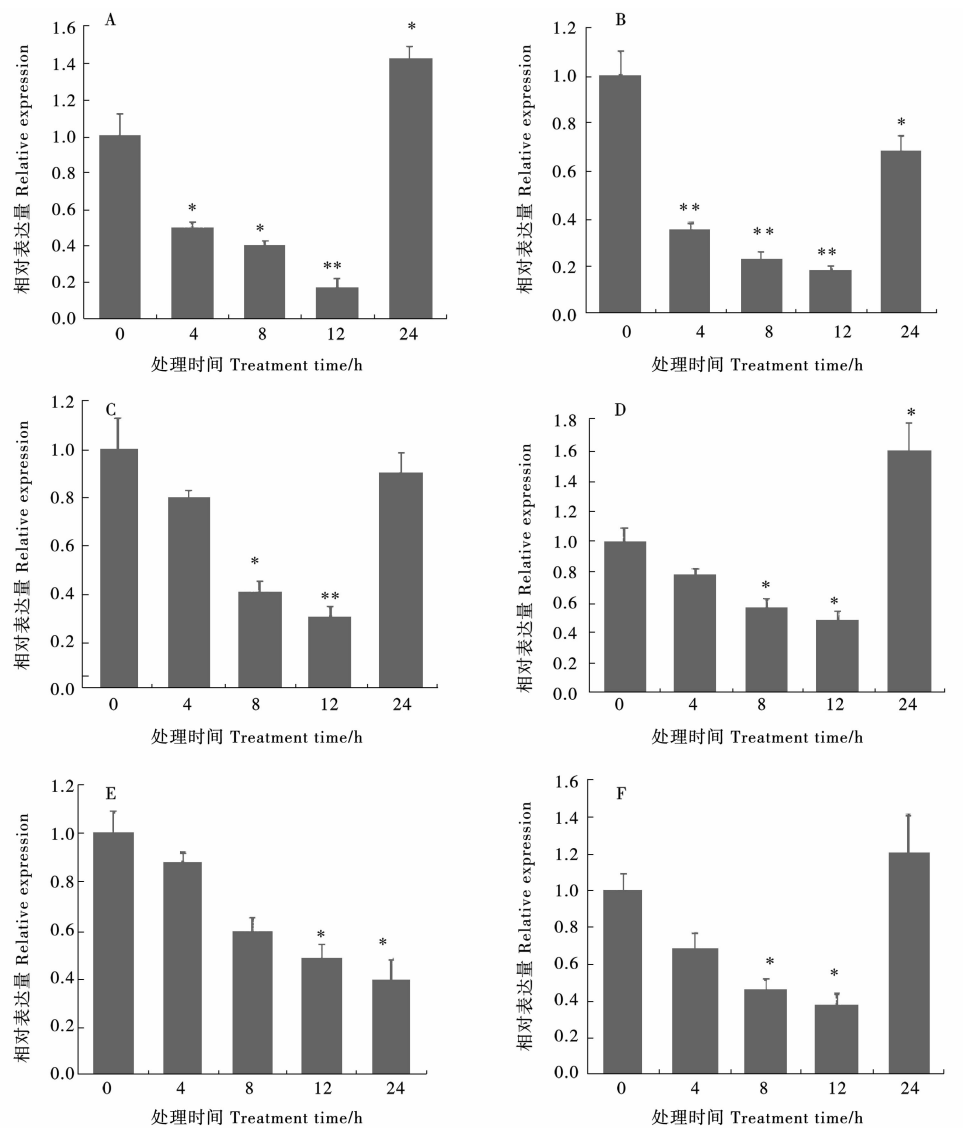


图3 GmWRKY4 与拟南芥家族 WRKY 成员的进化树分析
Fig.3 Phylogenetic analysis of the GmWRKY4 with WRKY protein from Arabidopsis thaliana



A:NaCl 处理;B:PEG 处理;C:低温处理;D:ACC 诱导处理;E:SA 处理;F:JA 处理。
A: NaCl treatment; B: PEG treatment; C: Low-temperature treatment; D: ACC treatment; E: SA treatment; F: JA treatment.
** :1% 水平差异显著; * :5% 水平差异显著。
** and * mean significant difference at 1% and 5% level, respectively.

图4 不同处理下 *GmWRKY4* 基因在植株叶片表达量随时间变化规律
Fig.4 The expression of *GmWRKY4* gene at different time under different treatments

3 讨论

在植物防御反应及代谢过程中,WRKY 基因家族具有不可替代的作用,因此,加强对 WRKY 基因生物信息学方面的研究分析能够促进 WRKY 基因生物学功能的研究。王婷婷等^[11]对 GmWRKY28-like 蛋白进行分析,明确该基因具有 WRKY 结构域,同时,谢政文等^[12]明确在 WRKY 基因 C 端含有一个非典型的锌指结构,这个锌指结构可能是 Cx₄₋₅Cx₂₂₋₂₃HxH 或 Cx₇Cx₂₃HxC。本研究中大豆 *GmWRKY4* 属于第一类 WRKY 家族,含有 2 个 WRKY 结构域,锌指结构为 C2H2 型。通过对大豆 *GmWRKY4* 与其它豆类 WRKY 家族同源性比较,揭示了其在进化过程

中的高度保守性,同时,大豆 WRKY4 与拟南芥 WRKY 家族进化关系的分析,表明了大豆 WRKY4 基因与拟南芥 WRKY 基因具有一定的进化关系,这些结果为大豆 WRKY 基因家族的挖掘及功能分析提供了一定的理论依据。
魏晓爱等^[13]利用 NaCl 对拟南芥进行胁迫处理,对拟南芥 WRKY 基因的表达情况进行研究,结果表明,在 72 个编码拟南芥 WRKY 转录因子的基因中,对盐胁迫反应表达上调、基因表达下调及无明显反应的基因数目分别为 23,7,42 个,这说明编码 WRKY 转录因子的基因能够调控植物对逆境胁迫的响应过程。在本研究中,非生物胁迫(4℃ 低温、150 mmol·L⁻¹ NaCl 和 60% PEG)大豆植株后发现,

GmWRKY4 基因表达量有一定的波动变化,表明该基因对非生物逆境胁迫具有一定的响应作用。

大量的研究表明,植物激素能够造成黄化幼苗的生长异常,同时能够影响根和茎的生长、花的发育及叶片的脱落等;JA 能够抑制种子及花粉的萌发,对花的脱落及果实的成熟具有促进作用,并且与植物抗病性相关^[14]。王丽芳等^[15]研究了 *LeWRKY1* 在番茄灰霉菌侵染、茉莉酸 (JA)、水杨酸 (SA)作用下的表达情况,结果发现外源植物激素 JA 能够促进 *LeWRKY1* 的表达,而 SA 对其无明显作用。在本研究中,激素 (ACC、SA、JA)诱导大豆植株后发现, *GmWRKY4* 基因表达量出现一定变化,其中,ACC 与 JA 对 *GmWRKY4* 基因表达量的影响基本一致,先降低后增高,但 ACC 处理下 *GmWRKY4* 基因表达量明显高于 JA 处理;SA 诱导后,该基因表达量一直处于降低的趋势,由此推测,ACC 较 JA 对该基因的表达影响更为显著,而 SA 对该基因表达可能是负调控机制,该结果与王丽芳等^[15]研究结果不一致,有关上述 3 种激素对大豆中 *GmWRKY4* 的相关调控作用机制仍有待进一步研究。

4 结 论

本研究利用大豆基因组数据库 (<https://soybase.org/>),克隆了大豆 *GmWRKY4* 基因开放阅读框的 DNA;利用生物信息学明确 *GmWRKY4* 基因属于 WRKY 转录因子家族的第 G1 类;*GmWRKY4* 与拟南芥 WRKY 转录因子进行系统进化树比较发现, *GmWRKY4* 与 *AtWRKY3*、*AtWRKY4* 相似度最高;通过非生物胁迫及激素诱导处理大豆植株后发现, *GmWRKY4* 基因参与 NaCl、PEG、低温非生物的胁迫反应,同时,该基因也可以通过参与 ACC、SA、JA 信号通路实现对逆境的响应。

参考文献

[1] 伍林涛,杜才富,张敏琴,等. WRKY 转录因子的结构及其在植物抗逆境胁迫中的功能[J]. 分子植物育种,2013,11(4):634-638. (Wu L T, Du C F, Zhang M Q, et al. The structure and function of WRKY transcription factors in abiotic and biotic stress [J]. Molecular Plant Breeding, 2013, 11(4): 634-638.)

[2] Ishiguro S, Nakamura K. 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. MGG [J]. Molecular Gene Genetic, 1994, 244(6):563-571.

[3] Chen L G, Song Y, Li S J, et al. The role of WRKY transcription factors in plant abiotic stresses [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2011,1819(2):120-128.

[4] 钱金鑫,齐学军,解莉楠,等. 拟南芥中 WRKY 家族基因功能

的研究进展[J]. 安徽农业科学,2014(5):1295-1297. (Qian J X, Qi X J, Xie L N, et al. Research advances about function of WRKY family gene in *Arabidopsis thaliana* [J]. Journal of Anhui Agriculture Sciences,2014,(5):1295-1297.)

[5] 连肖华,陈坚. *SUSIRI* 基因的生物信息学分析及亚细胞定位[J]. 中国农学通报,2015,31(6):128-135. (Lian X H, Chen J. Analysis of *SUSIRI* gene from rice by bioinformatics and subcellular localization [J]. China Agriculture Science Bulletin,2015,31(6):128-135.)

[6] 林国强,陈志雄,胡润芳,等. 大豆防御应答相关 WRKY 转录因子的克隆与表达分析[J]. 福建农业学报,2011,26(1):29-32. (Lin G Q, Chen Z X, Hu R F, et al. Cloning and expression analysis of WRKY transcription factors in soybeans [J]. Fujian Journal of Agriculture Science,2011,26(1):29-32.)

[7] 李大红,王春弘,刘喜平,等. 大豆 *GmWRKY35* 基因的克隆及其增强烟草耐旱能力研究[J]. 大豆科学,2017,36(5):685-691. (Li D H, Wang C H, Liu X P, et al. Expression of *GmWRKY35*, a soybean WRKY gene, in transgenic tobacco confers drought stress tolerances [J]. Soybean Science, 2017,36(5): 685-691.)

[8] 朱娉慧,陈冉冉,于洋,等. 碱胁迫相关基因 *GsWRKY15* 的克隆及其转基因苜蓿的耐碱性分析[J]. 作物学报,2017,43(9):1319-1327. (Zhu P H, Chen R R, Yu Y, et al. Cloning of gene *GsWRKY15* related to alkaline stress and alkaline tolerance of transgenic plants [J]. Acta Agronomica Sinica, 2017,43(9): 1319-1327.)

[9] 李茹,周洁,李冬月,等. 水稻 *OsWRKY7* 基因的表达研究[J]. 中国水稻科学,2015,29(6):559-570. (Li R, Zhou J, Li D Y, et al. Expression of *OsWRKY7* in Rice [J]. China Journal of Rice Science, 2015, 29(6):559-570.)

[10] Zhang Y, Wang L. The WRKY transcription factor superfamily: Its origin in eukaryotes and expansion in plants [J]. BMC Evolutionary Biology,2005,5(1):1-12.

[11] 王婷婷,丛亚辉,柳聚阁,等. 大豆中一个 *WRKY28-like* 基因的克隆与功能分析[J]. 作物学报,2016,42(4):469-481. (Wang T T, Cong Y H, Liu J G, et al. Cloning and functional analysis of a *WRKY28-like* gene in soybean [J]. Acta Agronomica Sinica, 2016,42(4):469-481.)

[12] 谢政文,王连军,陈锦洋,等. 植物 WRKY 转录因子及其生物学功能研究进展[J]. 中国农业科技导报,2016,18(3):46-54. (Xie Z W, Wang L J, Chen J Y, et al. Studies on WRKY transcription factors and their biological functions in plants [J]. Journal of Agriculture Science Technology,2016,18(3):46-54.)

[13] 魏晓爱,姚文静,姜廷波,等. 拟南芥 WRKY 基因家族应答非生物胁迫基因的鉴定[J]. 东北林业大学学报,2016,44(10):45-48. (Wei X A, Yao W J, Jiang T B, et al. Identification of WRKY Gene in response to abiotic stress from WRKY transcription factor gene family of *Arabidopsis thaliana* [J]. Journal Northeast Forestry University,2016,44(10):45-48.)

[14] Hou X, Lee L Y, Xia K, et al. DELLAs modulate jasmonate signaling via competitive binding to JAZs [J]. Development Cell, 2010,19(6):884-894.

[15] 王丽芳,于涌鲲,杜希华,等. 茉莉酸等 3 种因素刺激番茄 *LeWRKY1* 的表达特征分析[J]. 中国农学通报,2010,26(23):73-76. (Wang L F, Yu Y K, Du X H, et al. Expression analysis of *LEWRKY1* in tomato induced by jasmonic acid and other two factors [J]. China Agriculture Science Bulletin, 2010,26(23):73-76.)