



大豆 WRKY 转录因子及其生物学功能研究进展

李换丽, 雷 佳, 吴 霞, 王新胜, 马燕斌

(山西省农业科学院 棉花研究所, 山西 运城 044000)

摘 要: WRKY 转录因子在植物的逆境胁迫和生长发育中起着关键作用。目前关于 WRKY 转录因子的功能研究, 已经成为植物生物学领域研究的热点。本文阐述了大豆 WRKY 家族转录因子的生物学功能, 同时对目前大豆在各种逆境胁迫和生长发育中相关应答基因进行归类和分析, 结果有助于大豆 WRKY 基因家族的挖掘和功能研究, 为后续大豆作物遗传改良提供一定的分子依据, 同时对新抗逆材料的研究以及创造新种质具有现实意义。

关键词: 大豆; WRKY 转录因子; 逆境胁迫; 基因功能

Studies on WRKY Transcription Factors and Their Biological Functions in Soybean

LI Huan-li, LEI Jia, WU Xia, WANG Xin-sheng, MA Yan-bin

(Institute of Cotton, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Yuncheng 044000, China)

Abstract: WRKY transcription factors play a key role in resistance to adverse stresses and growth development of plants. Thus, studies on function of WRKY transcription factors have become a hotspot in the plant biology field. This paper elaborated the biological functions of soybean WRKY family transcription factors, meanwhile classified and analyzed the relevant response genes of soybean in various stress and growth development. These results will be helpful for the excavation and functional analysis of the soybean WRKY gene family and provide certain molecular basis for the subsequent genetic improvement. And it will be practical significant for us to study new anti-stress materials in new germplasm creating.

Keywords: *Glycine max*; WRKY transcription factors; Adverse stress; Gene function

大豆 [*Glycine max* (L.) Merrill] 是我国主要的经济作物, 同时也是植物蛋白、食用油、动物饲料和生物燃料的重要来源^[1]。因含有大量的异黄酮等天然的抗氧化物质, 被视为抗癌药物的来源^[2-3]。此外, 大豆还能通过根部的天然固氮作用, 提高土壤中的氮含量, 改善土壤结构^[4]。目前, 我国大豆的总产量远不足供求需要, 为满足国内需求, 国家开始加快推进大豆作物良种科研攻关, 推进现代农业发展。但由于我国气候(高温、低温)、土壤条件(盐碱、干旱)等不良生长环境的影响, 致使大豆产量和品质均受到不同程度的影响。因此, 开展大豆抗逆机理研究, 对促进我国耐逆种植生产具有一定重要意义。

WRKY 转录因子是植物体内重要的调控基因家族。自 1994 年第一个 WRKY 转录因子(SPF1)在甘薯中首次被报道^[5], 随后不同植物的 WRKY 转录因子被不断克隆和鉴定分析, 有关 WRKY 转录因子的功能研究已经成为植物生物学领域的热点。研

究表明它在植物抗逆应答反应中起着重要作用^[6], 如高盐、干旱、重金属、高温、寒冷^[7]、病原菌感染^[8]、种子发育^[9]、植株衰老^[10]等。已相继从水稻、玉米、拟南芥和烟草等高等植物中获得与抗逆有关的 WRKY 家族基因, 而对大豆作物中的 WRKY 家族基因研究也是研究者关注的重点之一。但是大豆在各种逆境胁迫下的复杂调控机制尚不完全清楚。为进一步了解相关耐逆基因在大豆抗逆抗病中的调控机理, 本研究就目前大豆在各种逆境胁迫和生长发育中相关 WRKY 家族应答基因进行归类和分析, 为今后相关研究能够提供理论参考。

1 WRKY 转录因子的结构特点及分类

WRKY 家族转录因子(TFs)因含有高度保守的 WRKY 结构域而得名, 每个结构域是由其 N 端核心保守的 WRKYGQK 七肽序列和 C 端的 C2H2(C-X₄₅-C-X₂₂₋₂₃-H-X₁-H)或 C2HC(C-X₇-C-X₂₃-H-X₁-C)锌指结构组成。根据保守的 WRKY 结构域数量和锌

收稿日期: 2019-04-16

基金项目: 国家转基因生物新品种培育重大专项(2016ZX08010-003); 山西省农业科学院优势课题(YYS1710)。

第一作者简介: 李换丽(1989-), 女, 硕士, 助理, 主要从事植物基因功能研究。E-mail: 719992362@qq.com。

通讯作者: 马燕斌(1978-), 男, 博士, 副研究员, 主要从事植物基因功能研究。E-mail: mybin-wx@163.com。

指序列不同的特点,可将 WRKY 蛋白归为 3 组。每组的 WRKY 蛋白分别含有两个 C2H2 锌指基序结构域、1 个 C2H2 锌指图案结构域和 1 个 C2HC 锌指基序结构域。另外,第 II 组 WRKY 蛋白可进一步划分为 5 个亚组,分别是 IIa、IIb、IIc、II d 和 II e^[11-13]。

2 大豆 WRKY 家族转录因子的生物学功能研究

目前大豆作物中已经有 197 个 WRKY 家族基因序列被公开,研究发现其中一些基因在耐逆信号转导过程中起着较为重要的作用^[14]。但是只有极少数基因功能被验证,绝大多数的基因功能尚待研究。以下总结了大豆 WRKY 家族相关基因在生物和非生物逆境下的研究进展。

2.1 大豆 WRKY 转录因子在生物胁迫中的作用

植物生物胁迫主要是由细菌、病害、昆虫咬食、杂草及寄生植物等引起的^[15]。研究人员主要通过目标基因过表达、RNA 干扰或者突变体缺失,以诱导病原菌内源基因的表达等方法对 WRKY 相关基因的功能进行验证^[16]。研究发现 WRKY 转录因子家族在植物抗病原体的防御反应中起着重要调控作用^[17]。目前,大豆 WRKY 转录因子家族在生物逆境方面的研究主要集中在黑豆锈病、疫霉根腐病、根系胞囊线虫病和大豆根系猝死综合症病菌等病害胁迫方面(表 1)。

表 1 大豆 WRKY 转录因子在生物胁迫中起调控作用
Table 1 The regulatory role of soybean WRKY transcription factor in biotic stress

生物胁迫	转录因子	组	参考文献
Biotic stress	Transcription factor	Group	Reference
黑豆锈菌	GmWRKY27	IIb	[18]
<i>Phakopsora pachyrhizi</i>	GmWRKY139	III	[18]
疫霉根腐病	GmWRKY31	IIa	[19]
<i>Phytophthora sojae</i>	GmWRKY148	IIc	[20]
胞囊线虫	GmWRKY53	IIa	[21]
<i>Cyst nematode</i>	GmWRKY86	I	[21]
	GmWRKY136	III	[21]
根系猝死综合症病菌	GmWRKY53	IIa	[22]
<i>Fusarium virguliforme</i>			

大豆黑豆锈病(*Phakopsora pachyrhizi*)是由真菌感染导致的主要病害。相关研究表明 WRKYs 参与大豆响应真菌病害的调控。Malato 等^[18]研究发现感染了锈病的大豆在同时被真菌感染时,有 75 个

WRKY 家族相关基因存在表达差异。后期利用 RNA 干扰的方法同时沉默大豆同源基因 *GmWRKY27*、*GmWRKY139*、*GmWRKY56* 和 *GmWRKY106* 后,发现转基因株系对真菌的敏感性增强。但分别沉默 *GmWRKY56* 和 *GmWRKY106* 转基因型株系敏感度未发生变化,因此这种表型结果与沉默 *GmWRKY27* 和 *GmWRKY139* 有关,同时也说明这 4 个基因在致病防御反应中可能发挥协同作用。

大豆疫霉根腐病是由大豆疫霉菌(*Phytophthora sojae*)引起,对大豆作物生长发育有严重的危害。研究证明,过表达 *GmWRKY31*^[19]能够在一定程度上缓解大豆疫霉根腐病的发生。过表达 *GmWRKY148*^[20]至大豆发状根能够增强其对疫霉根腐病的抗性。

大豆胞囊线虫 SCN(*soybean cyst nematode*)是大豆植物的重要病原菌,通过破坏大豆根系,导致大豆发育不良,最后萎蔫和严重产量损失^[23]。Yang 等^[21]通过对大豆全部 WRKY 进行转录组测序及特异性表达分析,将 *GmWRKY53*、*GmWRKY86* 和 *GmWRKY136* 过表达转入大豆植株中发现 SCN 胞囊数比正常对照组低 40%~55%。说明这 3 个 WRKY 基因显著提高了对大豆植株胞囊线虫的抗性。

大豆根系猝死综合症病菌(*Fusarium virguliforme*)是一种土传真菌,是大豆根系猝死综合症的病原菌。它通过进入大豆根部组织产生毒素,转移至叶片及整个植株体内,最终导致植株落叶和程序性死亡。研究发现,*GmWRKY53* 转录因子的表达能够增强大豆对根系猝死综合症病菌的抗性。与此同时,该基因的过表达也能够防御大豆植株胞囊线虫的危害^[21-22],该研究表明这个基因具有多种功能,可同时应答不同生物胁迫。但 *GmWRKY53* 对这两个根系病原菌的调控途径还需进一步研究。

此外,大豆植株在生长发育过程中还受灰斑病、霜霉病等生物病害的影响,有关大豆 WRKY 转录因子在生物胁迫方面研究仍需要更系统深入的研究。

2.2 大豆 WRKY 转录因子在非生物胁迫中的作用

植物在生长发育过程中除遭受生物胁迫外,也面临非生物胁迫的危害^[24]。目前,大豆遗传转化体系重复性差、诱导效率低等缺点,仍然是植物基因工程的难点之一。因此主要通过将大豆 WRKY 家族基因转入拟南芥、烟草或百脉根、毛状根等来研究大豆抵抗非生物胁迫的生物学功能。研究发现,影响大豆的主要非生物胁迫包括:盐碱、干旱、水分胁迫、洪涝、高温、冷害等(表 2)。

表 2 大豆 WRKY 转录因子在非生物胁迫中起调控作用

Table 2 The regulatory role of soybean WRKY transcription factor in abiotic stress

非生物胁迫	转录因子	组	参考文献
Abiotic stress	Transcription factor	Group	Reference
盐 Salinity	GmWRKY4	I	[25]
	GmWRKY6	IIc	[26]
	GmWRKY12	IIc	[27]
	GmWRKY13	IIId	[28]
	GmWRKY20	III	[29][30]
	GmWRKY28-like	III	[31]
	GmWRKY47	IIc	[29]
	GmWRKY49	IIc	[32]
	GmWRKY54	IIa	[28]
	GmWRKY71	IIId	[29]
	GmWRKY76	IIc	[33]
	GmWRKY92	IIId	[29]
	GmWRKY126	IIa	[33]
	GmWRKY134	IIa	[29]
	GmWRKY144	IIc	[33]
	GmWRKY153	III	[29]
	GmWRKY164	IIc	[29]
	GmWRKY165	IIId	[33]
干旱 Drought	GmWRKY4	I	[25]
	GmWRKY12	IIe	[27]
	GmWRKY27	IIb	[34]
	GmWRKY28-like	III	[31]
	GmWRKY35	IIc	[35]
	GmWRKY47	IIc	[29]
	GmWRKY53	IIa	[22]
	GmWRKY54	IIa	[28]
水分胁迫 Water	GmWRKY57B	III	[36]
	GmWRKY58	III	[33]
	GmWRKY47	IIc	[33]
	GmWRKY58	III	[33]
洪涝 Flood	GmWRKY53	IIa	[22]
	GmWRKY4	I	[25]
低温 Cold	GmWRKY21	I	[28]

土壤盐碱、干旱是影响植物生长的两个主要非生物胁迫因素。由于植物通过根际吸收营养物质和基本元素,因此土壤缺水及重要元素的缺乏会直接影响植物的生长和发育^[37]。土壤中高盐浓度超过了阈值水平会导致土壤中钠离子和氯离子重度胁迫、土壤失水、营养失衡,最终抑制作物生长^[38-42]。土壤长期干旱会引起生理缺水,致使植物生长发育受阻^[43-44]。近年来研究发现 WRKY 转录因子能够参与植物逆境胁迫的应答。例如在模式

作物拟南芥 WRKY 家族中有 30 个转录因子响应盐胁迫,其中 23 个上调表达,7 个下调表达^[45]。菜豆 WRKY 家族中有 19 个参与干旱胁迫的应答^[46]。为了研究在盐逆境胁迫下大豆 WRKY 家族转录因子的生物学功能,Yu 等^[29]通过对全基因组测序分析得出 *GmWRKY20*、*GmWRKY47*、*GmWRKY71*、*GmWRKY76*、*GmWRKY126*、*GmWRKY134*、*GmWRKY153* 和 *GmWRKY164* 等参与盐胁迫逆境的应答。Song 等^[33]通过转录组分析研究显示:*GmWRKY47* 和 *GmWRKY58*在脱水反应下调表达,*GmWRKY92*、*GmWRKY144* 和 *GmWRKY165* 在盐胁迫下基因上调表达。这些结果为进一步研究大豆 WRKY 基因家族的功能提供了重要线索。宁文峰等^[30]研究发现大豆 *GmWRKY20* 仅在开花的起始阶段上调表达,同时受盐、干旱等非生物逆境的影响。说明这个基因是多功能基因,同时响应多种信号通路。王昭玉等^[25]通过不同的盐、干旱和低温处理水平,发现铁丰 29 大豆 *GmWRKY4* 的表达量呈现先降低而后增加的变化趋势,说明 *GmWRKY4* 参与 NaCl、PEG 和低温的非生物胁迫应答。另外,通过系统进化发育树分析,大豆 *GmWRKY4* 与拟南芥作物 *AtWRKY3* 和 *AtWRKY4* 转录因子具有较强的相似性。在 2008 年,Lai 等^[47]通过 T-DNA 插入突变体和转基因试验证明 *AtWRKY3* 和 *AtWRKY4* 对拟南芥病原菌具有调控作用。而对于 *GmWRKY4* 是否具有相似的功能、是否通过响应多种信号通路或调解其它家族成员的表达来行使功能都需要进一步验证。

最早在 2008 年,Zhou 等^[28]研究发现过表达 *GmWRKY54*、*GmWRKY13*、*GmWRKY21* 的转基因拟南芥抗盐、抗干旱和抗冷性均有不同程度的提高。同时研究发现在烟草中过表达 *GmWRKY35*^[35]、*GmWRKY57B*^[36]能够提高其抗旱性。而过表达 *GmWRKY28-like*^[31]、*GmWRKY49*^[32]的拟南芥对盐胁迫具有正向调控作用。野生大豆 *GsWRKY20* 在拟南芥中的表达能够增强耐旱性^[48]。超表达 *GmWRKY6*^[26]的百脉根对盐胁迫的抗性增强,过表达 *GmWRKY12*^[27]的毛状根其抗旱性和耐盐性增强。Wang 等^[34]研究发现 *GmWRKY27* 与 *GmMYB174* 相互作用抑制大豆抗逆性负调控因子 *GmNAC29* 的表达,进而增强抗旱能力。这些结果均验证了大豆 WRKY 家族相关基因的耐逆功能,但是对于是否能改善大豆产量和品质仍需要转入大豆中来进行验证。

洪涝是可导致土壤内涝和淹没,致使植物进行无氧呼吸,根系产生大量的毒素,最终会导致植株死亡。Tripathi 等^[22]研究发现,*GmWRKY53*/ERF 复

合物参与调控水分胁迫反应。大豆 *GmWRKY53* 通过和 3 个水涝诱导的转录因子互作来调节对水涝的耐受性。Chen 等^[49]通过对干旱和洪涝胁迫下全基因组测序研究分析得出大豆 WRKY 家族基因多数参与胁迫应答。但这些基因的调控机理有待于后期代谢组和生理学等进一步研究。

目前关于大豆 WRKY 转录因子家族在非生物胁迫下的作用机制尚不完全清楚,后期有待通过在大豆中过表达、突变体插入及基因沉默等技术揭示其生物机制。此外,地表温度的变化对农业生产的影响一直是研究的热点。外界温度压力(高温、低温)使植物体内激活酶的活性降低,蛋白质结构受影响,最终植物生长受阻^[50-52]。有研究报道,过表达 *GmWRKY21* 的转基因拟南芥耐寒性增强^[28],大豆中的相关研究工作还有待开展。

2.3 大豆 WRKY 转录因子在生长发育中的调控作用

WRKY 转录因子不仅能够防御植物的生物胁迫和非生物胁迫,同时在调控种子萌发、根系生长、植株开花及衰老的一系列过程也起着关键作用^[53-54]。例如拟南芥中 *AtWRKY2*^[55] 在调节种子萌发的过程中起着重要的作用;*AtWRKY6*^[56] 被证明参与叶片衰老,同时调节衰老相关基因的表达;*AtWRKY71*^[57] 能够促进开花并调节植株分枝发育。另外在水稻中, *OsWRKY78*^[58] 的表达能够调节茎伸长和种子发育,而过表达 *OsWRKY42*^[59] 的水稻活性氧积累较多,叶绿素含量减少,最终导致叶片过早的衰老。而在大豆作物中研究的基因较少。目前 WRKY 转录因子在大豆种子发育、开花期和根系生长方面研究较多,衰老阶段的研究仍是空白(表 3)。

表 3 大豆 WRKY 转录因子在生长发育中起调控作用
Table 3 The regulatory role of WRKY transcription factors in soybean growth and development

生长发育	转录因子	组	参考文献
Growth and development	Transcription factors	Group	Reference
促使种子发育	GmWRKY15a	I	[60]
Promote seed development			
促使开花	GmWRKY20	III	[30]
Promote flowering	GmWRKY46	III	[30]
	GmWRKY56	III	[30]
促使开花和茎的伸长	GmWRKY58	III	[61]
Promote flowering and stem elonging	GmWRKY76	IIc	[61]
促进侧根发育			
Promote lateral root development	GmWRKY13	IId	[28]

在种子萌发方面,Gu 等^[60]发现大豆 WRKY15 的同源基因 *GmWRKY15a* 和 *GsWRKY15a* 基因在种子发育过程中起着重要的作用。且野生大豆籽粒变化较栽培大豆明显。*GsWRKY15a* 的表达量与种子大小成正相关。前人研究发现过表达 *AtWRKY15* 促使叶片扩增^[62],过表达 *GhWRKY15* 的茎秆伸长^[63],这些结果表明植物 WRKY15 同源基因可能影响细胞大小并控制器官大小,进而影响植物的生长。研究发现 *GmWRKY20*、*GmWRKY46*、*GmWRKY56* 基因与花的发育有关^[30]。过表达 *GsWRKY20* 在拟南芥中能够促使提前开花,参与调控植物开花途径,同时促进种子的萌发^[48]。Yang 等^[61]研究发现,过表达 *GmWRKY58* 和 *GmWRKY76* 促进开花和茎的生长,说明这两个基因在植株生长过程中起着重要的作用。另外,过表达 *GmWRKY13* 不仅能够增强拟南芥对盐和甘露醇的敏感度,同时还促进侧根的增加^[28]。此外,将 *GmWRKY49*^[32] 转入拟南芥中也促进了根系的发育。今后可通过大豆遗传转化将相关基因转入大豆研究相关功能,同时通过结构生物学、细胞学和发育学等研究大豆根系的结构,以便更好地为改善大豆品质提供服务。

植株衰老是自身遗传程序控制的一个重要阶段,在发育生物学上具有重要的作用。但是由于环境的影响,许多作物在生长发育过程中都有叶片提早脱落的现象。虽然在拟南芥和水稻中已有关于衰老机制的研究报道,但是目前尚未研究大豆 WRKY 家族基因与植株衰老的机制,后续有望在这方面进行深入的探讨。

2.4 大豆 WRKY 转录因子在激素信号途径中的调控作用

植物能够通过复杂的转录调控过程响应环境胁迫,同时激活体内的其它生物分子来协同适应环境,这些生物分子包括:分子伴侣、解毒酶、转运蛋白、LEA 蛋白及激素等。其中,WRKY 转录因子与植物激素信号转导也密切相关^[64]。通过对拟南芥、水稻等作物进行基因组学分析,发现 WRKY 家族转录因子对水杨酸(SA)、茉莉酸(JA)、乙烯(ETH)、脱落酸(ABA)和赤霉素(GA3)等不同植物激素均有应答^[65-68]。目前关于大豆 WRKY 家族基因参与水杨酸(SA)、茉莉酸(JA)和脱落酸(ABA)的应答调控(表 4)的研究证明,脱落酸(ABA)信号途径参与了植物干旱、冷、盐等非生物胁迫反应^[69]。Luo 等^[48]研究发现野生大豆 *GsWRKY20* 的表达能够增强拟南芥的抗旱性,同时参与调节 ABA 信号途径;王婷婷等^[31]通过荧光定量 PCR 得出 *WRKY28-like* 参与脱落酸的应答。*GmWRKY4* 可通过参与

ACC、SA、JA 信号通路实现对逆境的应答^[25]。*GmWRKY53*/ERF 复合物调控水分胁迫反应,能够引导转基因烟草中的茉莉酸诱导表达^[22]。Yang 等^[21]通过对大豆全部 WRKY 进行转录组测序及特异性表达分析发现 *GmWRKY4*、*GmWRKY39*、*GmWRKY49*、*GmWRKY59*、*GmWRKY79*、*GmWRKY80* 和 *GmWRKY103* 表达特异性与大豆胞囊线虫相关外,同时 *GmWRKY34* 和 *GmWRKY106* 主要通过叶片中参与对水杨酸的调控应答,而 *GmWRKY19* 和 *GmWRKY62* 在根和叶片中均有表达。

表 4 大豆 WRKY 转录因子在植物激素代谢中起调控作用
Table 4 The regulatory role of soybean WRKY transcription factor in plant hormone metabolism

植物激素	转录因子	组	参考文献
Plant hormone	Transcription factors	Group	Reference
脱落酸 ABA	<i>GmWRKY28-like</i>	III	[31]
茉莉酸 JA	<i>GmWRKY53</i>	IIa	[22]
水杨酸 SA	<i>GmWRKY4</i>	I	[25]
	<i>GmWRKY19</i>	I	[21]
	<i>GmWRKY39</i>	III	[21]
	<i>GmWRKY49</i>	IIc	[25]
	<i>GmWRKY59</i>	IIc	[21]
	<i>GmWRKY62</i>	IIb	[21]
	<i>GmWRKY79</i>	IIb	[21]
	<i>GmWRKY80</i>	IIe	[21]
	<i>GmWRKY103</i>	IIc	[21]
	<i>GmWRKY106</i>	IIa	[21]

研究发现,大豆 WRKY 家族基因对激素的响应都是通过一系列的信号传导及复杂的调控网络实现的,后期有待深入研究各个信号通路的机理及生理代谢过程,为更好的研究大豆 WRKY 基因功能提供有效的信息资源。

2.5 大豆 WRKY 家族基因的其它生物学研究进展

研究发现重金属污染也是影响大豆生长发育的重要因素。土壤中过量的铬、锰、铜、铅、砷等都影响植物根系发育和生物量的积累,最终使生长代谢受阻,遭受严重的毒害^[70]。彭俊楚等^[71]研究发现 *GmWRKY7* 能够通过一系列的信号传导抑制 *GmALMT1* 的表达,进而缓解大豆的铝毒害影响。其它大豆 WRKY 家族基因是否也和重金属有关需要通过基因组学、转录组测序等手段进一步研究。此外,在水稻上发现 *OsWRKY89*^[72] 是一种抗 UV-B 的转录因子。过表达 *OsWRKY89* 使转基因水稻的叶片

表面蜡沉积增多,进而降低 UV-B 透过率。该研究结果为 WRKY 家族基因的多种功能提供信息,而大豆 WRKY 家族基因有关这方面研究更是空白,后期还需要进一步的研究并建立参与辐射调节的 WRKY 蛋白数据库。

3 结 论

WRKY 家族转录因子在植物生长各个时期和逆境胁迫中都起着关键作用^[73]。了解大豆 WRKY 家族基因在生物学上的功能有助于科研工作者在大豆抗逆抗病方面的研究。综前所述可以发现,大豆 WRKY 家族第 I、II、III 类基因均参与逆境调控,以第 II 类研究最为广泛。目前,参与大豆生物胁迫的主要 WRKY 转录因子有 8 个(表 1),参与非生物胁迫主要有 33 个(表 2),参与大豆生长发育的有 7 个(表 3),参与激素应答反应的有 12 个(表 4),共有 60 个相关 WRKY 转录因子被证实在大豆的逆境应答中起着重要的作用。而在大豆已有的 196 个 WRKY 家族转录因子中,只有将近 30% (60/196) 的编码基因的功能被研究和验证,其余近 70% 的 WRKY 家族基因未被发掘。此外,研究发现包含 *GmWRKY12*、*GmWRKY27* 等基因在内的许多大豆 WRKY 家族基因都是多功能基因,能够同时调控多种逆境胁迫应答。对于单个基因如何在多种逆境环境下互相调控的机理和生化反应尚待进一步验证,可能需要通过转录组学、生物信息学、生物化学分析等方法进行相关深入研究。此外,也发现多个 WRKY 转录因子参与同一种胁迫的应答。如 *GmWRKY4*、*GmWRKY6*、*GmWRKY12*、*GmWRKY13* 和 *GmWRKY20* 等都参与大豆盐胁迫的应答。因此 WRKY 转录因子的多功能性仍待进一步研究。

4 展 望

短期内国内大豆需求与种植的结构性质仍将延续。据不完全统计,我国 90% 的大豆需求依靠进口,加强培育中国特色优质大豆种质资源迫在眉睫。常规育种周期长,局限性大,转基因技术可在一定程度上加快大豆优质资源的选育和改善大豆的品质。但是大豆遗传转化体系较为复杂,通过转基因技术转化大豆仍然是植物基因工程领域的难点^[74]。目前仅有少数相关基因转入大豆作物中进行研究,并获得了再生植株。如 Fan 等^[19]通过过表达和 RNA 干扰分析表明转基因大豆植株 *GmWRKY31* 增强了对大豆芽胞杆菌的抗性。因此加强大豆转基因技术研究,将一些优良基因导入大豆进行功能验证,更好地为大豆培育新品种提供技术支

持,同时有助于促进国内大豆的分子遗传基础进行分析,为改善重要相关性状提供新的策略。通过对生物和非生物胁迫下相关大豆 WRKY 家族基因的研究,为大豆抗逆分子机理研究及新种质培育协同发展提供有效的资源。针对我国大豆目前的研究现状,相关基因的挖掘能够在一定程度上改善大豆的品质,以满足消费者的多样化需求。

参考文献

[1] Wu W, Zhang Q, Zhu Y, et al. Comparative metabolic profiling reveals secondary metabolites correlated with soybean salt tolerance [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(23): 118-132.

[2] Jahan M A, Harris B, Lowery M, et al. The NAC family transcription factor *GmNAC42-1* regulates biosynthesis of the anticancer and neuroprotective glyceollins in soybean[J]. BMC Genomics, 2019, 20: 149.

[3] 孙明明, 王萍, 李智媛, 等. 大豆活性成分研究进展[J]. 大豆科学, 2018, 37(6): 975-983. (Sun M M, Wang P, Li Z Y, et al. Research progress of soybean active ingredients[J]. Soybean Science, 2018, 37(6): 975-983.)

[4] Crawford N M. Mechanisms for nitric oxide synthesis in plants [J]. Journal of Experimental Botany, 2006, 57(3): 471-478.

[5] 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[J]. Molecular Gene Genetic, 1994, 244(6): 563-571.

[6] 李珍, 华秀婷, 张积森. 高等植物 WRKY 转录因子家族的演化及功能研究进展[J]. 热带作物学报, 2018, 39(2): 405-414. (Li Z, Hua X T, Zhang J S. Evolution and gene function of WRKY transcription factor families in higher plants[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2018, 39(2): 405-414.)

[7] Banerjee A, Roychoudhury A. WRKY proteins: Signaling and regulation of expression during abiotic stress responses[J]. The Scientific World Journal, 2015: 807560.

[8] Duan Y, Jiang Y, Ye S, et al. PtrWRKY73, a salicylic acid-inducible poplar WRKY transcription factor, is involved in disease resistance in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Cell Report, 2015, 34: 831-841.

[9] Zentella R, Zhang Z, Park M, et al. Global analysis of della direct targets in early gibberellin signaling in *Arabidopsis*[J]. Plant Cell, 2007, 19: 3037-3057.

[10] Silke R, Imre E S. Targets of *AtWRKY6* regulation during plant senescence and pathogen defense[J]. Genes Development, 2002, 16: 1139-1149.

[11] 孙淑豪, 余迪求. WRKY 转录因子家族调控植物逆境胁迫响应[J]. 生物技术通报, 2016, 32(10): 66-76. (Sun S H, Yu D Q. WRKY transcription factors in regulation of stress response in plant[J]. Biotechnology Bulletin, 2016, 32(10): 66-76.)

[12] Chen H, Lai Z B, Shi J W, 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(6): 443-462.

[13] Park C Y, Lee J H, Yoo J H, et al. WRKY group IId transcription factors interact with calmodulin[J]. FEBS Letters, 2005, 579(6):1545-50.

[14] Schmutz J, Cannon S B, Schlueter J, et al. Genome sequence of the palaeopolyploid soybean [J]. Nature, 2010, 463 (7278): 178-183.

[15] 李岢, 周春江. 植物 WRKY 转录因子的研究进展[J]. 植物生理学报, 2014, 50(9):1329-1335. (Li K, Zhou C J. Research progress in WRKY transcription factors in plants[J]. Plant Physiology Journal, 2014, 50(9): 1329-1335.)

[16] 罗昌国, 袁启凤, 裴晓红, 等. 植物 WRKY 转录因子家族 Group II a 基因研究进展[J]. 热带作物学报, 2015, 36(3): 629-637. (Luo C G, Yuan Q F, Pei X H, et al. Research progress on WRKY transcription factors Group II a gene in plants[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2015, 36(3): 629-637.)

[17] 禹阳, 贾赵东, 马佩勇, 等. WRKY 转录因子在植物抗病反应中的功能研究进展[J]. 分子植物育种, 2018, 16(21): 7009-7020. (Yu Y, Jia Z D, Ma P Y, et al. Research progress on the role of WRKY transcription factors in plant defense[J]. Molecular Plant Breeding, 2018, 16(21):7009-7020.)

[18] Malato B M, Cabreira C, Strohm B W, et al. Genome-wide annotation of the soybean WRKY family and functional characterization of genes involved in response to *Phakopsora pachyrhizi* infection [J]. BMC Plant Biology, 2014, 14: 236.

[19] Fan S J, Dong L D, Han D, et al. *GmWRKY31* and *GmHDL56* enhances resistance to *phytophthora sojae* by regulating defense-related gene expression in soybean[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 68: 781.

[20] 王莎莎, 崔晓霞, 黄颜众, 等. 大豆 *GmWRKY148* 的克隆与功能分析 [J]. 中国农业科学, 2018, 51(18): 3445-3454. (Wang S S, Cui X X, Huang Y Z, et al. Cloning and functional analysis of the *GmWRKY148* in soybean[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2018, 51(18): 3445-3454.)

[21] Yang Y, Zhou Y, Chi Y J, et al. Characterization of soybean WRKY gene family and identification of soybean WRKY genes that promote resistance to soybean cyst nematode[J]. Scientific Reports, 2017, 7:17804.

[22] Tripathi P, Rabara R C, Choudhary M K, et al. The interactome of soybean *GmWRKY53* using yeast 2-hybrid library screening to saturation[J]. Plant Signal Behavior, 2015, 10(7):e1028705.

[23] Wei L, Wang W W, Yu Z Y, et al. Molecular genetic analysis on soybean cyst nematode resistance in Heilongjiang province, China [J]. Soybean Science, 2018, 37(6): 843-853.

[24] Aditya B, Aryadeep R. WRKY proteins: Signaling and regulation of expression during abiotic stress responses[J]. The Scientific World Journal, 2015: 807560.

[25] 王昭玉, 甄珍, 李雅琳, 等. 大豆转录因子 *GmWRKY4* 分子克隆与表达分析 [J]. 大豆科学, 2018, 37(4): 539-544. (Wang Z Y, Zhen Z, Li Y L, et al. Cloning and expression analysis of transcription factors *GmWRKY4* in soybean[J]. Soybean Science, 2018, 37(4): 539-544.)

[26] 柯丹霞, 彭昆鹏, 夏远君, 等. 盐胁迫应答基因 *GmWRKY6* 的克隆及转基因百脉根的抗盐分析[J]. 草业学报, 2018, 27

- (8):95-106. (Ke D X, Peng K P, Xia Y J, et al. Cloning of salt-stressed responsive gene *GmWRKY6* and salt resistance analysis of transgenic *Lotus japonicus* [J]. Acta Prataculturae Sinica, 2018, 27(8): 95-106.)
- [27] Shi W Y, Du Y T, Ma J, et al. The WRKY transcription factor *GmWRKY12* confers drought and salt tolerance in soybean[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19: 4087.
- [28] Zhou Q Z, 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.
- [29] Yu Y C, Wang N, Hu R B, et al. Genome-wide identification of soybean WRKY transcription factors in response to salt stress[J]. Springer Plus, 2016, 5: 920.
- [30] 宁文峰, 庞添, 杨艳玲, 等. 大豆 *GmWRKY20* 基因表达特性研究[J]. 大豆科学, 2016, 35(5): 748-753. (Ning W F, Pang T, Yang Y Y, et al. Expression analysis of *GmWRKY20* in soybean[J]. Soybean Science, 2016, 35(5): 748-753.)
- [31] 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.)
- [32] Xu Z L, Raza Q, Xu L, et al. *GmWRKY49*, a salt-responsive nuclear protein, improved root length and governed better salinity tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. Frontiers in Plant Science, 2018, 9: 809.
- [33] Song H, Wang P F, Hou Lei, 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.
- [34] Wang F, Chen H W, Li Q T, et al. *GmWRKY27* interacts with *GmMYB174* to reduce expression of *GmNAC29* for stress tolerance in soybean plants [J]. The Plant Journal, 2015, 83(2): 224-236.
- [35] 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.)
- [36] 张兰, 王晓萍, 毕影东, 等. 大豆转录因子 *GmWRKY57B* 的基因克隆及功能分析[J]. 科学通报, 2008, 53(21): 2604-2611. (Zhang L, Wang X P, Bi Y D, et al. Cloning and functional analysis of transcription factors *GmWRKY57B* in soybean [J]. Chinese Science Bulletin, 2008, 53(21): 2604-2611.)
- [37] Zhu Y X, Gong H J. Beneficial effects of silicon on salt and drought tolerance in plants[J]. Agronomy for Sustainable Development, 2014, 34: 455-472.
- [38] Yin J L, Jia J H, Lian Z Y, et al. Silicon enhances the salt tolerance of cucumber through increasing polyamine accumulation and decreasing oxidative damage[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019, 169: 8-17.
- [39] 朱永兴, 李换丽, 胡彦宏, 等. 硅酸盐提高番茄抗盐性的效应与生理机制[J]. 农业环境科学学报, 2015, 34(2): 213-220. (Zhu Y X, Li H L, Hu Y H, et al. Effect of silicate on salt resistance in tomato and underlying physiological mechanisms [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2015, 34(2): 213-220.)
- [40] Zhu Y X, Yin J L, Liang Y F, et al. Transcriptomic dynamics provide an insight into the mechanism for silicon-mediated alleviation of salt stress in cucumber plants[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019, 174: 245-254.
- [41] Li H L, Zhu Y X, Hu Y H, et al. Beneficial effects of silicon in alleviating salinity stress of tomato seedlings grown under sand culture[J]. Acta Physiol Plant, 2015, 37: 71.
- [42] Zhang Y, Shou L, Ying L, et al. Effects of exogenous spermidine and elevated CO₂ on physiological and biochemical changes in tomato plants under iso-osmotic salt stress [J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2018, 37: 1222-1234.
- [43] Zhang Y, Shi Y, Gong H J, et al. Beneficial effects of silicon on photosynthesis of tomato seedlings under water stress[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2018, 17(10): 2151-2159.
- [44] Gong H J, Zhu X Y, Chen K M, et al. Silicon alleviates oxidative damage of wheat plants in pots under drought[J]. Plant Science, 2005, 169: 313-321.
- [45] 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 of Northeast Forestry University, 2016, 44(10): 45-48.)
- [46] 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, 2017, 8: 380
- [47] Lai Z B, Vinod K M, Zheng Z Y, et al. Roles of *Arabidopsis WRKY3* and *WRKY4* transcription factors in plant responses to pathogens[J]. BMC Plant Biology, 2008, 8: 68.
- [48] Luo X, Bai X, Sun X L, et al. Expression of wild soybean *WRKY20* in *Arabidopsis* enhances drought tolerance and regulates ABA signalling [J]. Journal of Experimental Botany, 2013, 8(64): 2155-2169.
- [49] Chen W, Yan Q M, Patil G B, et al. Identification and comparative analysis of differential gene expression in soybean leaf tissue under drought and flooding stress revealed by RNA-Seq[J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 1044.
- [50] 包刚, 覃志豪, 周义, 等. 气候变化对中国农业生产影响的模拟评价进展 [J]. 中国农学通报, 2012, 28(2): 303-307. (Bao G, Qin Z H, Zhou Y, et al. Advance of evaluation of climate impact on crop yield[J]. Chinese Agriculture Science Bulletin, 2012, 28(2): 303-307.)
- [51] 靳路真, 王洋, 张伟, 等. 高温胁迫对不同耐性大豆品种生理生化的影响[J]. 大豆科学, 2019, 38(1): 63-71. (Jin L Z, Wang Y, Zhang W, et al. Effects of high temperature stress on physiological and biochemical traits of soybeans with different heat tolerance[J]. Soybean Science, 2019, 38(1): 63-71.)
- [52] 桑树鹏. 大豆不同生育期内应对低温冷害措施的研究[J]. 大豆科技, 2013(1): 53-54. (Sang S P. Study on the measures of coping with low temperature and cold damage in different growth stages of soybean[J]. Soybean Technology, 2013(1): 53-54.)

[53] 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 Agricultural Science Technology, 2016, 18(3): 46-54.)

[54] 李振华, 王建华. 种子活力与萌发的生理与分子机制研究进展[J]. 中国农业科学, 2015, 48(4): 646-660. (Li Z H, Wang J H. Advances in research of physiological and molecular mechanism in seed vigor and germination[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2015, 48(4): 646-660.)

[55] Jiang W, Yu D. *Arabidopsis* WRKY2 transcription factor mediates seed germination and postgermination arrest of development by abscisic acid[J]. BMC Plant Biology, 2009, 9: 96.

[56] Robatzek S, Somssich I E. Targets of *AtWRKY6* regulation during plant senescence and pathogen defence[J]. Genes and Development, 2002, 16(9): 1139-1149.

[57] Yu Y, Liu Z, Wang L, et al. *WRKY71* accelerates flowering via the direct activation of *FLOWERING LOCUS T* and *LEAFY* in *Arabidopsis thaliana*[J]. The Plant Journal, 2016, 85(1): 96-106.

[58] Zhang C Q, Xu Y, Lu Y, et al. The WRKY transcription factor *OsWRKY78* regulates stem elongation and seed development in rice[J]. Planta, 2011, 234(3): 541-554.

[59] Han M, Kim C Y, Lee J, et al. *OsWRKY42* represses *OsMTid* and induces reactive oxygen species and leaf senescence in rice[J]. Molecules and Cells, 2014, 37(7): 532-539.

[60] Gu Y Z, Li W, Jiang H W, et al. Differential expression of a *WRKY* gene between wild and cultivated soybeans correlates to seed size [J]. Journal of Experimental Botany, 2017, 68(11): 2717-2729.

[61] Yang Y, Chi Y J, Wang Z, et al. Functional analysis of structurally related soybean *GmWRKY58* and *GmWRKY76* in plant growth and development[J]. Journal of Experimental Botany, 2016, 67(15): 4727-4742.

[62] Vanderauwera S, Vandenbroucke K, Inzé A, et al. *AtWRKY15* perturbation abolishes the mitochondrial stress response that steers osmotic stress tolerance in *Arabidopsis*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2012, 109(49): 20113-20118.

[63] Yu F, Huaxia Y, Lu W, et al. *GhWRKY15*, a member of the WRKY transcription factor family identified from cotton (*Gossypium hirsutum* L.), is involved in disease resistance and plant development[J]. BMC Plant Biology, 2012, 12: 144.

[64] Chen L, Song Y, Li S, et al. The role of WRKY transcription factors in plant abiotic stresses[J]. Biochimica et Biophysica Acta- Gene Regulatory Mechanisms, 2012, 1819(2): 120-128.

[65] Jiang Y, Liang G, Yang S, et al. *Arabidopsis* WRKY57 functions as a node of convergence for jasmonic acid-and auxin-mediated signaling in jasmonic acid-induced leaf senescence[J]. Plant Cell, 2014, 26: 230-245.

[66] Dong J, Chen C, Chen Z. Expression profiles of the *Arabidopsis* WRKY gene superfamily during plant defense response[J]. Plant Molecular Biology, 2003, 51: 21-37.

[67] 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: 1909-1935.

[68] Zhang Y, Yu H, Yang X, 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 Biochemistry, 2016, 108: 478-487.

[69] Mahajan S, Tuteja N. Cold, salinity and drought stresses: An overview[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2005, 444(2): 139-158.

[70] 秦耀旭, 张关元, 刘司奇, 等. 植物重金属胁迫相关 miRNA 的研究进展[J]. 分子植物育种, 2019, 17(9): 2855-2861. (Qin Y X, Zhang G Y, Liu S Q, et al. Research progress of miRNA related to heavy metal stress in plants[J]. Molecular Plant Breeding, 2019, 17(9): 2855-2861.)

[71] 彭俊楚. 大豆 *GmWRKYs* 基因的克隆和功能研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2016: 32-36. (Peng J C. Isolation and function analysis of soybean *GmWRKYs*[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2016: 32-36.)

[72] Wang H, Hao J, Chen X, et al. Overexpression of rice *WRKY89* enhances ultraviolet B tolerance and disease resistance in rice plants[J]. Plant Molecular Biology, 2007, 65(6): 799-815.

[73] 张凡, 尹俊龙, 郭瑛琪, 等. WRKY 转录因子的研究进展[J]. 生物技术通报, 2018, 34(1): 40-48. (Zhang F, Yin J L, Guo Y Q, et al. Research advances on WRKY transcription factors[J]. Biotechnology Bulletin, 2018, 34(1): 40-48.)

[74] 李艳超, 赵青松, 王凤敏, 等. 大豆遗传转化技术研究进展[J]. 大豆科学, 2015, 34(1): 155-162. (Li Y C, Zhao Q S, Wang F M, et al. Research progress on soybean genetic transformation technology [J]. Soybean Science, 2015, 34(1): 155-162.)