

茄科植物 WRKY 转录因子的研究进展

李 笑, 成玉富, 杨 旭*

(扬州大学园艺与植物保护学院, 江苏扬州 225009)

摘 要: WRKY 蛋白是植物中最大的具有重要作用的转录因子家族之一, 通过特异性结合启动子区域的 W-Box 来调控基因的表达, 其成员参与了茄科 (Solanaceae) 植物的生长、发育、代谢、生物和非生物胁迫响应和激素信号的转导等进程。综述茄科植物 WRKY 转录因子表达模式和在生物和非生物胁迫中调控作用的研究进展。

关键词: 茄科植物; WRKY; 转录因子

中图分类号: S 641

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2017) 01-0170-09

Research Progress of WRKY Transcription Factors in Solanaceae Plants

LI Xiao, CHENG Yufu, and YANG Xu*

(College of Horticulture & Plant Protection, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China)

Abstract: Protein of WRKY family, one of the largest families of transcription factors, plays an important role in plant. WRKY proteins regulate genes by specifically binding to the W-Box in promoter regions. They are involved in developmental and metabolic processes, as well as in biotic, abiotic stress responses and hormone signal transduction in Solanaceae plants. This review paper discusses the research progresses of expression profile and regulation of in biotic, abiotic stress of WRKY factors in Solanaceae plants.

Keywords: Solanaceae plants; WRKY; transcription factor

植物在生长发育过程中往往会遭受各种生物和非生物胁迫的影响, 胁迫诱导基因的表达发生在转录水平, 在这个水平上起主要作用的蛋白质就是各种转录因子 (transcription factors, TF), 即反式作用因子。它是一类能与真核基因启动子区域中的顺式作用元件发生特异性互作, 对转录具有激活或抑制作用的 DNA 结合蛋白 (刘强 等, 2000)。

WRKY 转录因子是植物中最大的转录因子家族之一, 其成员众多, 在不同的植物中已克隆到大量的 WRKY 成员, 在模式植物拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 中有 74 个成员 (Kalde et al., 2003), 水稻 (*Oryza sativa*) 中有 100 多个成员 (Wu et al., 2005), 大豆 (*Glycine max*) 中有 197 个成员 (Schmutz et al., 2010)。WRKY 转录因子的名称源于其 N 端有一段由 60 个氨基酸组成的高度保守的 WRKY 结构域 (Eulgem et al., 1999; Agarwal et al., 2011)。有研究表明: WRKY 转录因子通过其保守的氨基酸序列与 W-Box 结合并发生特异性相互作用 (Eulgem et al., 2000), 而 W-Box 是目标基因启动

收稿日期: 2016-11-01; 修回日期: 2016-12-21

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31171954)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: yangxu20152014@163.com)

子, WRKY 转录因子与之结合来调控目标基因的转录与表达, 从而参与植物多种生物代谢和反应进程。

茄科植物种类众多且种间差异大, 包含番茄 (*Solanum lycopersicum*)、辣椒 (*Capsicum annuum*)、马铃薯 (*Solanum tuberosum*)、茄子 (*Solanum melongena*) 和烟草 (*Nicotiana tabacum*) 等超过 3 000 种植物。目前对 WRKY 转录因子的克隆、分离以及功能分析已经成为植物分子生物学领域的研究热点, 在非茄科作物拟南芥、水稻和茄科作物番茄中研究较多, 但在茄科其他植物中的研究相对较少, 所以, 研究茄科植物的 WRKY 转录因子有利于进一步了解茄科植物在胁迫条件下的生理生化反应。

1 WRKY 转录因子的结构与分类

1.1 WRKY 转录因子的结构

转录因子在结构上一般包含 4 个区域, 分别为 DNA 结合区、转录调控区、寡聚化位点和核定位信号, WRKY 转录因子也有这 4 个功能区域。与众不同的是 WRKY 转录因子的 N 端有高度保守的七肽序列 (WRKYGQK), 同时 C 末端有 1 个锌指结构域。虽然 WRKYGQK 序列高度保守, 但在个别 WRKY 转录因子中也存在变异, 例如在马铃薯 WRKY 转录因子家族中, *StWRKY31* 和 *StWRKY32* 的 WRKYGQK 七肽发生了缺失 (黄胜雄和刘永胜, 2013); 在番茄 81 个 WRKY 转录因子家族中 (*SlWRKY1* ~ *SlWRKY81*), 有 10 个 WRKYGQK 发生了变异, 其中有 5 个 WRKYGQK 变异为 WRKYGKK (张红 等, 2016); 而在水稻的 WRKY 转录因子家族中, 存在着 19 个变异的 WRKY 结构域 (Zhang et al., 2006)。所以总体而言 WRKY 转录因子在高度保守的情况下也存在变异的现象。

1.2 WRKY 转录因子的分类

根据 WRKY 转录因子的 WRKY 结构域数量和锌指结构域的特征, 多数 WRKY 转录因子分为 3 大类, 第 1 类 WRKY 转录因子含有 2 个 WRKY 结构域, 第 2 类含有 1 个 WRKY 结构域, 这两类的锌指结构相同, 均为 C2H2 (C-X4 ~ 5-C-X22 ~ 23-H-X1-H) 型, 其中第 2 类又可以分为 4 个亚类; 第 3 类也只含有 1 个 WRKY 结构域, 但锌指结构为 C2-H (C-X7-C-X23-H-X1-C) 型 (Bakshi & Oelmüller, 2014)。第 3 类 WRKY 转录因子只存在于高等植物中, 在一些低等植物中尚未发现。大多数 WRKY 转录因子属于第 2 类, 比如 81 个马铃薯 WRKY 转录因子 (*StWRKY1* ~ *StWRKY81*) 中有 14 个属于第 1 类, 53 个属于第 2 类, 14 个属于第 3 类 (黄胜雄和刘永胜, 2013); 而 81 个番茄 WRKY 转录因子中, 其中有 15 个成员属于第 1 类, 55 个成员属于第 2 类, 11 个为第 3 类成员 (张红 等, 2016)。也有少数 WRKY 转录因子不属于这 3 类, 如刁卫平等 (2015) 利用生物信息学方法分析辣椒 WRKY 转录因子时发现辣椒基因组中存在 71 个 WRKY 基因, 其中有 15 个 WRKY 基因属于第 1 类, 41 个属于第 2 类, 10 个为第 3 类, *CaWRKY53*、*CaWRKY61*、*CaWRKY62* 及 *CaWRKY70* 这 4 个基因不属于任何一类。再如拟南芥中的 *AtWRKY10* 虽只含有 1 个 WRKY 结构域却与第 1 类成员 N 端 WRKY 保守域序列的特征相符 (Rushton et al., 2010)。因此, 3 类 WRKY 转录因子除了结构特征不同以外, 在数量和分布上也存在较大差异。

2 茄科植物 WRKY 转录因子的表达模式

研究表明:WRKY 转录因子在植物体内并非组成性表达,而是各种胁迫诱导表达的。*AtWRKY33* 受病原菌的诱导表达,使拟南芥抵御黑斑病菌和灰霉菌侵染的能力提升 (Zheng et al., 2006; Lai et al., 2011)。

在茄科植物的研究中发现,辣椒 WRKY 转录因子 *CaRKNIF1* 基因的表达具有组织特异性,并受多种生物胁迫的诱导 (张春秋 等, 2010)。异源表达辣椒 *CaWRKY27* 能够明显增强烟草对茄科雷尔氏菌的抵抗力 (Dang et al., 2014)。而且辣椒 *WRKY6*、*WRKY70* 和 *WRKY-A1244* 的表达分别受青枯菌 (*Ralstonia solanacearum*)、疫霉菌 (*Phytophthora capsici*) 和烟草花叶病毒 (TMV) 诱导 (Dang et al., 2013)。

同样受青枯菌诱导的还有 *StWRKY8*, 薛珍等 (2015) 运用 cDNA 末端快速扩增法从马铃薯中克隆了 1 个新的 WRKY 基因 *WRKY8*, *StWRKY8* 受青枯菌诱导后表达上调,且在感病、抗病基因型马铃薯中表达有差异。*StWRKY8* 在感病基因型马铃薯接种青枯菌 6 h 内表达量较低,而在抗病基因型马铃薯接种青枯菌 6 h 内高强度表达。刘晶晶等 (2016) 发现野生烟草在 TMV 侵染后 9 d, *NtWRKY40* 的表达量显著升高。还有研究表明普通烟草 *NtWRKY26*、*NtWRKY30*、*NtWRKY32* 的表达模式受黑胫病原菌 (*Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*) 诱导,可能与烟草黑胫病菌互作机制相关 (向小华等, 2016)。

此外,WRKY 转录因子在植物中的表达具有组织特异性。茄科植物 WRKY 家族中有 1 个抗冻蛋白 STHP-64, Northern 杂交分析发现只在每年 11—12 月中的叶片中才能检测到其表达量 (Huang & Duman, 2002)。Lagacé 和 Matton (2004) 从野生马铃薯胚珠中分离到转录因子基因 *ScWRKY1*, 它在受精后 16 d 的鱼雷期胚胎中有瞬高表达,但是在已完全发育的果实、根、茎和花瓣中表达量很低,表明 *ScWRKY1* 可能参与胚胎形成过程。而薛珍等 (2015) 获得的马铃薯 *StWRKY8* 基因主要在茎叶维管束系统的韧皮部表达。在普通烟草中, *NtWRKY26* 和 *NtWRKY78* 在根中表达量最高; *NtWRKY21* 和 *NtWRKY114* 在茎中表达量最高; *NtWRKY28*、*NtWRKY81* 和 *NtWRKY163* 在叶片中表达量最高; *NtWRKY8*、*NtWRKY30*、*NtWRKY31*、*NtWRKY51*、*NtWRKY68*、*NtWRKY73*、*NtWRKY103*、*NtWRKY111*、*NtWRKY153* 及 *NtWRKY159* 只在根组织中表达 (向小华 等, 2016)。因此,WRKY 转录因子在茄科植物体内受到各种生物和非生物胁迫的诱导而表达,并且在不同组织中的表达存在差异。

3 茄科植物 WRKY 转录因子的调控作用

3.1 茄科植物 WRKY 转录因子在生物胁迫中的调控作用

茄科植物 WRKY 转录因子在响应生物胁迫 (表 1) 和非生物胁迫 (表 2) 中发挥重要调控作用。在番茄 WRKY 转录因子的研究中,万红建等 (2013) 利用番茄全基因组测序结果鉴定出 81 个 WRKY 转录因子不均匀分布在番茄的 11 条染色体上,这些 WRKY 基因不仅参与了番茄根、子叶和真叶等不同组织类型的生长发育,而且还参与一些生物和非生物胁迫的抗性反应。

Atamian 等 (2012) 用烟草花叶病毒 (TRV) 的病毒诱导的基因沉默抑制 *SlWRKY70* 基因的表达 (与拟南芥基因 *WRKY70* 同源的番茄基因), *SlWRKY70* 基因沉默后, *Mi-1* 基因抗马铃薯蚜虫和根结线虫能力减弱,显示 *SlWRKY70* 基因会影响 *Mi-1* 基因功能的发挥。之后,Bo 等 (2014) 确定

了对番茄灰霉病菌敏感的基因 *SIDRW1*, 灰霉病菌会诱导 *SIDRW1* 基因表达, 沉默 *SIDRW1* 基因则会导致病害增加, 表明 *SIDRW1* 在番茄灰霉病防御氧化应激反应中起正调节作用。同年, Jing 和 Yu (2014) 从抗晚疫病番茄品种中通过电子克隆及 RT-PCR 方法分离出病原诱导的基因, 命名为 *SpWRKY2*。该基因在不同组织中均有表达, 在叶中表达水平较高, 根和茎的表达水平相对较低, 研究还发现 *SpWRKY2* 明显受到病菌侵染的诱导, 在马铃薯晚疫病病菌侵染 6 h 后 *SpWRKY2* 相对表达量最高, 为对照的 2.13 倍, 这与启动子区域的生物信息学分析结果一致, 表明 *SpWRKY2* 可能在番茄和马铃薯晚疫病病菌的互作中发挥作用, 这为进一步研究其功能奠定基础。刘文宝等 (2015) 则利用比较基因组学的方法, 从番茄和茄子基因组中各鉴定出 1 个与辣椒根结线虫抗性应答基因 *CaRKNIF2* 同源的 WRKY 基因 *SIRKNIF2* 和 *SmRKNIF2*, 并对其基因结构、遗传进化、蛋白基序和顺式作用元件进行了系统分析, 为进一步解析 *SIRKNIF2* 和 *SmRKNIF2* 的功能提供了线索。而 Xu 等 (2015) 在栽培茄子 (*S. melongena*) 中鉴定到 50 个 *SmelWRKYs*, 其中具有完整 WRKY 结构域的 *SmelWRKYs* 有 44 个, 在野生茄托鲁巴姆中鉴定到 62 个 *StorWRKYs*, 其中具有完整 WRKY 结构域的 *StorWRKYs* 有 53 个, 而且确定了几个与病原菌忍耐相关的 *SmelWRKYs* 和 *StorWRKYs*, 为提高栽培茄以及其他茄科植物的抗逆性提供可能的候选遗传资源。

Oh 等 (2006) 从辣椒中鉴定到 1 个受非亲和性病原菌快速诱导的转录因子基因 *CaWRKY2*。李淑敏等 (2008) 利用同源克隆法和 RT-PCR 技术克隆获得 6 个辣椒 WRKY 基因的全长 cDNA, 其中 *WRKY-a*、*CaWRKY2* 受根结线虫诱导表达, 而 *CaWRKY1* 的表达具有组织特异性。Zheng 等 (2011) 从辣椒中分离了 1 个 WRKY 基因并命名为 *CaWRKY30*, qRT-PCR 结果显示, *CaWRKY30* 在各种病原体存在时上调, 包括无毒根结线虫、烟草花叶病毒、青枯菌等, 此外, 在植物生长调节剂水杨酸 (SA) 处理后 *CaWRKY30* 的转录会被迅速诱导, 这些结果表明, *CaWRKY30* 可能参与植物的防御机制应对多种病原体侵染。Sung 等 (2012) 研究发现植物防御相关的生长调节剂处理和接种 TMV 会诱导 1 个辣椒 WRKY 转录因子基因 *CaWRKYd* 的转录合成, 与对照相比, *CaWRKYd* 沉默后植株病程相关 (PR) 基因和过敏反应相关 (HR) 基因的表达量下降, 表明该基因可能在应对生物胁迫和非生物胁迫中发挥作用。

在马铃薯中, 目前共有 81 个 *StWRKY* 转录因子被鉴定, *StWRKY1* 是 Dellagi 等 (2000) 采用差减杂交的方法从马铃薯中分离到的 WRKY 基因, 该基因编码 172 个氨基酸, 并包含 1 个 WRKY 结构域, 受到软腐病菌诱导表达, 推测它可能参与马铃薯抵御软腐病菌的侵染过程。但植株受到马铃薯病毒侵染时, *StWRKY06*、*StWRKY14* 和 *StWRKY49* 等成员响应尤为显著 (黄胜雄和刘永胜, 2013)。茄科植物烟草既是一种重要的模式植物, 也具有重要的经济价值。2000 年 Chun 和 Zhi (2000) 分离出两个烟草 WRKY 基因, *tWRKY3* 和 *tWRKY4*, 而且发现 *tWRKY3* 和 *tWRKY4* 不仅可以被烟草花叶病毒迅速诱导表达, 也可以被 SA 或其生物活性类似物诱导表达。Ren 等 (2010) 利用 RNAi 抑制转基因植物研究烟草转录因子 *WRKY4* 的作用时发现, 抑制 *NtWRKY4* 基因的株系叶片数量更多更大, 而 miRNA166 和 miRNA396 水平降低, 但当感染烟草花叶病 (TMV) 时, 基因被抑制的植株的叶片扭曲, 有明显的烟草花叶病病斑, 这表明 *NtWRKY4* 参与叶片形态的形成和抗病毒的过程。这些结果表明, 在茄科植物中, WRKY 转录因子参与多种生理反应, 响应多种生物胁迫, 为茄科植物抗病分子育种提供了重要的理论依据。

表 1 响应生物胁迫的 WRKY 转录因子
Table 1 WRKY transcription factors in response to biotic stress

植物 Plant	WRKY	生物胁迫 Biotic stress	参考文献 Reference
番茄 <i>Solanum lycopersicum</i>	<i>SIWRKY70</i>	马铃薯蚜虫和根结线虫 <i>Macrosiphum euphorbiae</i> and root knot nematode	Atamian et al., 2012
	<i>SIDRW1</i>	灰霉病菌 <i>Botrytis cinerea</i>	Bo et al., 2014
	<i>SpWRKY2</i>	晚疫病 Late blight	Jing & Yu, 2014
	<i>SpWRKY1</i>	马铃薯晚疫病 <i>Phytophthora infestans</i>	Jing et al., 2015
茄子 <i>Solanum melongena</i>	<i>SIRKNIF2</i> 、 <i>SmRKNIF2</i>	根结线虫 Root knot nematode	刘文宝 等, 2015
辣椒 <i>Capsicum annuum</i>	<i>WRKY-a</i> 、 <i>CaWRKY2</i>	根结线虫 Root knot nematode	Oh et al., 2006
	<i>CaWRKY30</i>	根结线虫、TMV 和青枯菌 Root knot nematode, TMV and <i>Ralstonia solanacearum</i>	Zheng et al., 2011
	<i>CaWRKYd</i>	TMV	Sung et al., 2012
马铃薯 <i>Solanum tuberosum</i>	<i>StWRKY1</i>	马铃薯软腐病 Soft rot of potato	Dellagi et al., 2000
烟草 <i>Nicotiana tabacum</i>	<i>tWRKY3</i> 和 <i>tWRKY4</i>	TMV	Chun & Zhi, 2000
	<i>NiWRKY4</i>	TMV	Ren et al., 2010

3.2 茄科植物 WRKY 转录因子在非生物胁迫中的调控作用

非生物胁迫包括低温、干旱和高盐等逆境。Sun 等（2015）通过使用正向遗传的方法证明过表达 *SIWRKY39* 的转基因植物能增强抗多种胁迫因素的能力（包括 PstDC3000、盐和干旱）。金慧和栾雨时（2011）以 SA 诱导的番茄为材料，利用同源克隆法得到番茄 WRKY 的 4 个 EST 序列，通过比对分析再借助 RT-PCR 技术从中克隆得到 1 个番茄 WRKY 全长 cDNA，半定量 PCR 分析结果表明，400 mmol·L⁻¹ NaCl、4℃低温胁迫后该基因表达量发生变化，说明其可能与番茄的耐盐性和耐低温性有关。前人采用同源克隆的方法从番茄中分离出了 *SIWRKY* 基因，并通过半定量 RT-PCR 分析结果显示番茄幼苗在盐和干旱处理的情况下 *SIWRKY* 基因表达上调，将 *SIWRKY* 基因转入烟草发现转基因烟草植株比野生型植株生长更为旺盛，表现出较高的耐盐性和耐旱性，所以番茄 *SIWRKY* 基因在响应盐和干旱胁迫中起着重要的作用（Jing et al., 2012）。Lin 等（2015）通过定量 RT-PCR 发现在响应冷应激时 70 个 *SIWRKY* 基因表现出不同的转录丰度，在 48 h 冷应激过程有 10 个 *SIWRKY* 基因诱导 2 倍以上，其中 *SIWRKY62* 在番茄中相对表达最高，所以 *SIWRKY* 在番茄的低温防御过程中可能是至关重要的，*SIWRKY* 基因家族的系统分析对进一步研究其生物学功能提供了重要的参考依据。

王育娜（2008）从经 UV 诱导的 cDNA 文库中分离获得了 1 个辣椒 WRKY 基因，该基因编码 378 个氨基酸残基的开放阅读框。Seok 等（2014）研究发现辣椒 WRKY 转录因子基因 *CaWRKY1* 全长 1 086 bp，编码 361 氨基酸，能被低温和脱落酸处理强烈诱导表达，在马铃薯植株中异源表达 *CaWRKY1* 能提高对干旱胁迫的耐受性，而且对主要农艺性状无明显影响，如株高、叶片大小和块茎的形成，异源表达 *CaWRKY1* 马铃薯植株的抗逆相关基因的表达增加，这表明 *CaWRKY1* 可以通过激活胁迫应答基因来调节马铃薯植株的抗旱性。邵帅等（2014）克隆茄子转录因子基因 *SmWRKY1*，发现茄子 WRKY1 与番茄 WRKY1 蛋白亲缘关系最近，同源性达 96%，而且 *Smel WRKY1* 在受到 SA、高盐和低温等多种非生物胁迫刺激后诱导表达。李立芹（2011）采用同源序列克隆的方法获得烟草 *WRKY12* 基因，其蛋白属于 WRKY 家族第 2 类成员，Northern Blot 试验证明该基因表达受 4℃低温胁迫诱导。李立芹和王西瑶（2015）采用电子克隆法获得马铃薯 *WRKY2* 基因，对马铃薯组培苗进行 10 μmol·L⁻¹ 低磷、10 μmol·L⁻¹ 低钾、200 mmol·L⁻¹ NaCl、400 mmol·L⁻¹ PEG 溶液和 4℃低温处理，处理 6 h，实时荧光定量 PCR 的结果表明该基因在低磷处理后表达量明显下降，在 NaCl

和 PEG 处理 6 h 后表达量明显升高, 但在低钾和低温处理后表达量与对照相比无明显变化, 说明 *SlWRKY2* 能响应低磷、NaCl 和 PEG 这 3 种非生物胁迫。这些研究结果可为 WRKY 转录因子在茄科植物抗逆分子育种的应用中提供理论依据, 为进一步深入研究茄科植物 WRKY 转录因子的功能奠定基础。

表 2 响应非生物胁迫的 WRKY 转录因子

Table 2 WRKY transcription factors in response to abiotic stress

植物 Plant	WRKY	非生物胁迫 Abiotic stress	参考文献 Reference
番茄 <i>Solanum lycopersicum</i>	<i>SlWRKY</i>	盐和干旱胁迫 Salt and drought stress	Jing et al., 2012
	<i>SlWRKY</i>	低温胁迫 Low temperature stress	Lin et al., 2015
茄子 <i>Solanum melongena</i>	<i>Smel WRKY1</i>	高盐和低温胁迫 High salt and low temperature stress	邵帅 等, 2014
辣椒 <i>Capsicum annuum</i>	<i>CaWRKY1</i>	寒冷和干旱胁迫 Cold and drought stress	Seok et al., 2014
烟草 <i>Nicotiana tabacum</i>	<i>WRKY12</i>	低温胁迫 Low temperature stress	李立芹, 2011
	<i>DgWRKY3</i>	盐胁迫 Salt stress	Qing et al., 2013
马铃薯 <i>Solanum tuberosum</i>	<i>StWRKY2</i>	低磷、NaCl 和 PEG Low phosphorus, NaCl and PEG	李立芹和王西瑶, 2015

3.3 茄科植物 WRKY 转录因子通过植物激素信号途径参与调控作用

王丽芳等 (2009) 以 $100 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ JA 处理番茄 6 h 后, 以总 RNA 为模板, 经 RT-PCR 获得 1 个番茄 WRKY 基因片段, 说明 WRKY 转录因子在番茄中受 JA 诱导。在栽培番茄品种中过表达来自野生番茄 (*Solanum pimpinellifolium* L3708) 由病原菌诱导的 *SpWRKY1* 基因, 与未转基因的野生型相比, 能明显提高栽培番茄对马铃薯晚疫病的抗性, 这种过度表达伴随着调节 ABA 生物合成基因的表达, 这些发现拓宽了关于 *SpWRKY1* 在不同信号转导通路的功能方面的认识 (Jing et al., 2015)。Chang 等 (2005) 分离了 1 个辣椒 WRKY 基因 *CaWRKY-a*, 该基因编码 1 个由 546 个氨基酸组成的多肽, 含有两个 WRKY 结构域和 1 个锌指结构, 研究表明 *CaWRKY-a* 不仅可以被植物生长调节剂如 SA 和乙烯利快速诱导表达, 在植物受伤后能被诱导表达, 而且 *CaWRKY-W-box* 有结合蛋白的活性, 这些预示着 *CaWRKY-a* 可能参与植物防御相关的信号转导途径。熊海军等 (2014) 采用 RT-PCR 反应从栽培烟草中克隆获得 3 条全长 WRKY 家族保守序列, 定名为 *NtWRKY10*、*NtWRKY11* 和 *NtWRKY12*, RT-PCR 分析表明, SA、ABA、Me JA 等信号分子均能诱导这 3 个基因的上调或下调表达, 表明这 3 个基因可能在栽培烟草抗逆反应中起作用。所以 WRKY 转录因子在茄科植物体内可以被植物激素和植物生长调节剂诱导表达, 进而参与调控作用。

4 展望

研究表明 WRKY 转录因子通过参与 SA、ABA、JA 和 ET 等信号通路来参与植物多种重要生理生化过程, 从而调控植物生长发育、胁迫应答等过程。茄科植物 WRKY 转录因子相关领域的研究已经有了一定的进展, WRKY 转录因子基因的转化使茄科植物抗病性得以提高, 而外源基因持续过量的表达又会影响到下游一系列基因的不间断表达。

目前, 茄科植物 WRKY 转录因子的研究还集中在基因克隆、表达及基本功能研究等方面, 关于其与病原菌的互作和对下游基因的调控机制, 以及在各种抗病信号转导过程中的作用研究甚少。随着 RNAi、miRNA 等研究基因功能方法的不断发展和 DNA 探针技术、质谱学、染色体免疫共沉淀技术的发展以及酵母双杂交等互作蛋白质筛选系统的完善, 有望能筛选出更多对茄科植物有用的

WRKY 转录因子, 进一步阐释茄科植物逆境响应机理, 从而培育出更多抗逆优质的新品种。

References

- Agarwal P, Reddy M P, Chikara J. 2011. WRKY: its structure, evolutionary relationship, DNA-binding selectivity, role in stress tolerance and development of plants. *Mol Biol Rep*, 38 (6): 3883 – 3896.
- Atamian H S, Eulgem T, Kaloshian I. 2012. *SlWRKY70* is required for Mi-1-mediated resistance to aphids and nematodes in tomato. *Planta*, 235: 299 – 309.
- Baksh M, Oelmüller R. 2014. WRKY transcription factors: jack of many trades in plants. *Plant Signal Behav*, 9 (1): e27700.
- Bo L, Yong B H, Ya F Z, Xiao H L, Lei H, Hui J Z, Da Y L, Feng M S. 2014. Tomato WRKY transcriptional factor *SIDRW1* is required for disease resistance against *Botrytis cinerea* and tolerance to oxidative stress. *Plant Science*, 227: 145 – 156.
- Chang J P, Yun C S, Boo J L, Ki J K, Jeong K K, Kyung H P. 2005. A hot pepper gene encoding WRKY transcription factor is induced during hypersensitive response to *Tobacco mosaic virus* and *Xanthomonas campestris*. *Planta*, 223: 168 – 179.
- Chun H C, Zhi X C. 2000. Isolation and characterization of two pathogen- and salicylic acid-induced genes encoding WRKY DNA-binding proteins from tobacco. *Plant Molecular Biology*, 42: 387 – 396.
- Dang F, Wang Y, She J, Lei Y, Liu Z, Eulgem T, Lai Y, Lin J, Yu L, Lei D. 2014. Overexpression of *CaWRKY27*, a subgroup IIe WRKY transcription factor of *Capsicum annuum*, positively regulates tobacco resistance to *Ralstonia solanacearum* infection. *Physiol Plant*, 150 (3): 397 – 411.
- Dang F F, Wang Y N, Yu L, Eulgem T, Lai Y, Liu Z Q, Wang X, Qiu A L, Cai H Y, Mou S L, He S L. 2013. *CaWRKY40*, a WRKY protein of pepper, play an important role in the regulation of tolerance to heat stress and resistance to *Ralstonia solanacearum* infection. *The Plant Cell Environment*, 36 (4): 757 – 774.
- Dellagi A, Helibronn J, Avrova A O. 2000. A potato gene encoding a WRKY-like transcription factor is induced in interactions with *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* and *Phytophthora infestans* and is coregulate with class I endochitinase expression. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 13 (10): 1092 – 1101.
- Diao Wei-ping, Wang Shu-bin, Liu Jin-bing, Pan Bao-gui, Guo Guang-jun, Ge Wei. 2015. Genome-wide analysis of the WRKY transcription factor family in pepper. *Acta Horticulturae Sinica*, 42 (11): 2183 – 2196. (in Chinese)
- 刁卫平, 王述彬, 刘金兵, 潘宝贵, 郭广君, 戈伟. 2015. 辣椒全基因组 WRKY 转录因子的分析. *园艺学报*, 42 (11): 2183 – 2196.
- Eulgem T, Rushton P J, Robatzek S, Smssichie E. 2000. The WRKY superfamily of plant transcription factors. *Trends Plant Sci*, 5 (5): 199 – 206.
- Eulgem T, Rushton P J, Schmelzer E. 1999. Early nuclear events in plant defence signaling: rapid gene activation by WRKY transcription factors. *EMBO J*, 18: 4689 – 4699.
- Huang L, Durnan J G. 2002. Cloning and characterization of a thermal hysteresis (antifreeze) protein with DNA-binding activity from winter bittersweet nightshade, *Solanum dulcamara*. *Plant Mol Biol*, 48: 339 – 350.
- Huang Sheng-xiong, Liu Yong-sheng. 2013. The bioinformatics analysis of WRKY transcription factors in potato. *Chin J Appl Environ Biol*, 19 (2): 205 – 214. (in Chinese)
- 黄胜雄, 刘永胜. 2013. 土豆 WRKY 转录因子家族的生物信息学分析, 应用与环境生物学报, 19 (2): 205 – 214.
- Jin Hui, Luan Yu-shi. 2011. Cloning and analysis of tomato WRKY gene. *Northwest Agriculture*, (4): 96 – 101. (in Chinese)
- 金慧, 栾雨时. 2011. 番茄 WRKY 基因的克隆与分析. *西北农业学报*, (4): 96 – 101.
- Jing B L, Yu S L. 2014. Molecular cloning and characterization of a pathogen-induced WRKY transcription factor gene from late blight resistant tomato varieties *Solanum pimpinellifolium* L3708. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, Doi: 10.1016/j.pmp.2014.05.004.
- Jing B L, Yu S L, Hui J. 2012. The tomato *SlWRKY* gene plays an important role in the regulation of defense responses in tobacco. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 427: 671 – 676.
- Jing B L, Yu S L, Zhen L. 2015. *SpWRKY1* mediates resistance to *Phytophthora infestans* and tolerance to salt and drought stress by modulating reactive oxygen species homeostasis and expression of defense-related genes in tomato. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 123: 67 – 81.

- Kalde M, Barth M, Somssich I E, Lippok B. 2003. Members of the *Arabidopsis* WRKY group III transcription factors are part of different plant defense signaling pathways. *Mol Plant Microbe Interact*, 16 (4): 295 - 305.
- Lagacé M, Matton D P. 2004. Characterization of a WRKY transcription factor expressed in late torpedo stage embryos of *Solanum chocaense*. *Planta*, 219: 185 - 189.
- Lai Z, Li Y, Wang F, Cheng Y, Fan B, Yu J Q, Chen Z. 2011. *Arabidopsis* sigma factor binding proteins are activators of the *WRKY33* transcription factor in plant defense. *Plant Cell*, 23 (10): 3824 - 3841.
- Li Li-qin. 2011. Isolation, expression and polyclonal antibody preparation of *WRKY12* gene in the tobacco. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, (3): 461 - 468. (in Chinese)
- 李立芹. 2011. 烟草 *WRKY12* 基因的分离、表达与多克隆抗体的制备. *核农学报*, (3): 461 - 468.
- Li Li-qin, Wang Xi-yao. 2015. Cloning and expression pattern research under abiotic stress of the *WRKY2* in potato. *Guihaia*, 35 (3): 401 - 407. (in Chinese)
- 李立芹, 王西瑶. 2015. 马铃薯 *WRKY2* 基因的克隆和非生物逆境下的表达模式. *广西植物*, 35 (3): 401 - 407.
- Li Shu-min, Mao Zhen-chuan, Li Lei. 2008. Separation of WRKY related to resistance to root knot nematode gene in pepper. *Acta Horticulturae Sinica*, 35 (10): 1467 - 1472. (in Chinese)
- 李淑敏, 茆振川, 李 蕾. 2008. 辣椒抗根结线虫相关 WRKY 基因的分离. *园艺学报*, 35 (10): 1467 - 1472.
- Lin C, Yang Y, Can L, Yan Y Z, Ming S X, Na W, Ji P S, Lin S. 2015. Characterization of WRKY transcription factors in *Solanum lycopersicum* reveals collinearity and their expression patterns under cold treatment. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 464: 962 - 968.
- Liu Jing-jing, Cheng Chun-ling, Xi Yu-zhen, Wei Shu. 2016. Roles of *Nicotiana tobacum* *NtWRKY40* in plant responding to virus infection. *Biotechnology Bulletin*, 32 (10): 188 - 198. (in Chinese)
- 刘晶晶, 程春玲, 席玉珍, 魏 书. 2016. 烟草 *NtWRKY40* 在植物应答病毒侵染过程中的作用. *生物技术通报*, 32 (10): 188 - 198.
- Liu Qiang, Zhang Gui-you, Chen Shou-yi. 2000. The structure and regulation of transcription factor in plant. *Science Bulletin*, 45 (14): 1465 - 1474. (in Chinese)
- 刘 强, 张贵友, 陈受宜. 2000. 植物转录因子的结构与调控作用. *科学通报*, 45 (14): 1465 - 1474.
- Liu Wen-bao, Wang Qing-hua, Zhang Min, Zhao Xiao-cui, Zhang Wei-hua, Wang Xiu-feng. 2015. Identification and characterization of *RKNIF2* gene of tomato and eggplant. *Shandong Agricultural Science*, 47 (10): 13 - 16. (in Chinese)
- 刘文宝, 王清华, 张 敏, 赵晓翠, 张卫华, 王秀峰. 2015. 番茄和茄子 *RKNIF2* 基因的鉴定和特征分析. *山东农业科学*, 47 (10): 13 - 16.
- Oh S K, Yi S Y, Yu S H. 2006. *CaWRKY2*, a chili pepper transcription factor, is rapidly induced by incompatible plant pathogens. *Molecules and Cells*, 22 (1): 58 - 64.
- Ren X J, Huang W D, Li W Z, Yu D Q. 2010. Tobacco transcription factor *WRKY4* is a modulator of leaf development and disease resistance. *Biologia Plantarum*, 54 (4): 684 - 690.
- Rushton P J, Somssich I E, Ringler P, Shen Q J. 2010. WRKY transcription factors. *Trends Plant Sci*, 15 (5): 247 - 258.
- Schmutz J, Cannon S B, Schlueter J. 2010. Genome sequence of the paleopolyploid soybean. *Nature*, 463 (7278): 178 - 183.
- Seok J M, Se Y H, Dool Y K, Beom G K, In S Y, Dong J S, Hawk B K, Myung O B. 2014. Ectopic expression of *CaWRKY1*, a pepper transcription factor, enhances drought tolerance in transgenic potato plants. *Plant Biol*, 57: 198 - 207.
- Shao Shuai, Zhao Fu-kuan, Xu Ling-xian. 2014. Cloning and sequence analysis of *SmWRKY1* transcription factor gene of eggplant. *Chinese Agricultural Bulletin*, (10): 124 - 128. (in Chinese)
- 邵 帅, 赵福宽, 徐岭贤. 2014. 茄子 *SmWRKY1* 转录因子基因克隆及序列分析. *中国农学通报*, (10): 124 - 128.
- Sun X C, Gao Y F, Li H R, Yang Sh Zh, Liu Y Sh. 2015. Over-expression of *SlWRKY39* leads to enhanced resistance to multiple stress factors in tomato. *Journal of Plant Biology*, 58: 52 - 60.
- Sung U H, La M C, Gil Je L, Y J K, Kyung H P. 2012. *Capsicum annuum* WRKY transcription factor d (*CaWRKYd*) regulates hypersensitive response and defense response upon *Tobacco mosaic virus* infection. *Plant Science*, 197: 50 - 58.

- Wang Yu-na. 2008. isolation and functional identification of WRKY transcription factor cDNA in pepper [Ph. D. Dissertation]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University. (in Chinese)
- 王育娜. 2008. 辣椒 WRKY 转录因 cDNA 的分离与功能鉴定 [博士论文]. 福州: 福建农林大学.
- Wu K L, Guo Z J, Wang H H, Li J. 2005. The WRKY family of transcription factors in rice and *Arabidopsis* and their origins. *DNA Res*, 12 (1): 9 - 26.
- Xiang Xiao-hua, Wu Xin-ru, Chao Jiang-tao, Yang Ming-lei, Yang Fan, Chen Guo, Liu Guan-shan, Wang Yuan-ying. 2016. Genome-wide identification and expression analysis of the WRKY gene family in common tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Hereditas*, (9): 840 - 862. (in Chinese)
- 向小华, 吴新儒, 晁江涛, 杨明磊, 杨帆, 陈果, 刘贯山, 王元英. 2016. 普通烟草 WRKY 基因家族的鉴定及表达分析. *遗传*, (9): 840 - 862.
- Xiong Hai-jun, Zhang Xing-tan, Wu Xiang-wei, Xie Xiao-dong, Nie Meng-yun, Wang Gen-hong, Xia Qing-you. 2014. Expression characteristics analysis of cultivation anti inverse correlation of WRKY transcription factor in tobacco. *The Chinese Journal of Tobacco*, (6): 144 - 149. (in Chinese)
- 熊海军, 张兴坦, 吴向伟, 谢小东, 聂梦云, 王根洪, 夏庆友. 2014. 栽培烟草抗逆相关 WRKY 转录因子的表达特征分析. *中国烟草学报*, (6): 144 - 149.
- Xu Y, Cao D, Yu Z, Yufu C, Qiuyue H, Linbao X. 2015. The WRKY transcription factor genes in eggplant (*Solanum melongena* L.) and Turkey berry (*Solanum torvum* Sw.). *International Journal of Molecular Sciences*, 16: 7608 - 7626.
- Xue Zhen, Li Hui, Kong Chao-yue, Duan Ting-ting, Gao Gang. 2015. Cloning and expression analysis of the potato transcription factor *StWRKY8* like gene induced by *Ralstonia solanacearum*. *Scientia Agricultura Sinica*, (21): 4219 - 4226. (in Chinese)
- 薛珍, 李卉, 孔超越, 段婷婷, 郇刚. 2015. 受青枯菌诱导表达的马铃薯转录因子类 *StWRKY8* 的克隆与表达分析. *中国农业科学*, (21): 4219 - 4226.
- Zhang Chun-qiu, Mao Zhen-chuan, Yang Yu-hong. 2010. Construction of WRKY transcription factor *CaRKNIF1* gene plant expression vector in pepper and transformation of tomato. *Molecular Plant Breeding*, 8 (4): 713 - 718. (in Chinese)
- 张春秋, 茆振川, 杨宇红. 2010. 辣椒 WRKY 转录因子基因 *CaRKNIF1* 植物表达载体构建及番茄转化. *分子植物育种*, 8 (4): 713 - 718.
- Zhang Hong, Jiang Jing-bin, Xu Xiang-yang, Li Jing-fu. 2016. Bioinformatics analysis of WRKY gene family in tomato. *Molecular Plant Breeding*, (8): 1965 - 1976. (in Chinese)
- 张红, 姜景彬, 许向阳, 李景富. 2016. 番茄 WRKY 基因家族的生物信息学分析. *分子植物育种*, (8): 1965 - 1976.
- Zhang Y, Wang L. 2005. The WRKY transcription factor superfamily: its origin in eukaryotes and expansion in plants. *BMC Evol Biol*, 5 (1): 1 - 12.
- Zheng Z, Qamar S A, Chen Z, Mengiste T. 2006. *Arabidopsis WRKY33* transcription factor is required for resistance to necrotrophic fungal pathogens. *Plant J*, 48 (4): 592 - 605.