

文章编号: 1004-0374(2010)04-0345-07

WRKY 转录因子功能的多样化

于延冲, 乔孟, 刘振华, 向凤宁*

(山东大学生命科学院植物细胞工程与种质创新教育部重点实验室, 济南 250100)

摘要: WRKY 是植物中一类重要的转录因子家族, 其共同的特点是含有高度保守的核心氨基酸序列 WRKYGQK, 在 C- 末端有一个锌指结构。WRKY 受到病原菌、损伤、SA (salicylic acid) 等因子的诱导后表达, 特异性识别 (T) (T) TGAC (C/T) 序列 (W-box), 调节基因的表达而参与许多生理过程, 如抗病、损伤、生长发育以及衰老等。该文主要介绍了 WRKY 的结构特点及其功能的研究进展。

关键词: WRKY; W-box; 转录因子

中图分类号: Q943.2 **文献标识码:** A

Diversification function of WRKY transcription factor

YU Yan-chong, QIAO Meng, LIU Zhen-hua, XIANG Feng-ning*

(Plant Cell Engineering and Germplasm Innovation Key Lab of Ministry of Education, Life Sciences School of Shandong University, Jinan 250100, China)

Abstract: WRKY is a superfamily of transcription factors existing abroad in plants, containing a conserved WRKYGQK domain and having a zinc finger motif. The expression of WRKY is induced by pathogen, wounding, SA, etc. WRKY proteins regulate target genes' expression via binding the (T) (T) TGAC (C/T) sequence (W-box) located in their promoter regions. WRKY proteins involved in many physiological processes, such as resistance, wounding, development, senescence. In this article, we primarily interpret their structure and review the current progresses on their functions.

Key words: WRKY; W-box; transcription factor

经过长期的进化, 植物形成了一系列用于调节自身的生长发育、抵御生物和非生物胁迫逆境的机制, 并有着复杂的过程。转录因子 (DREB、NAC、WRKY、MYB 等) 在这一系列的调控中起重要的作用。

WRKY 转录因子是近年来在植物中发现的一类重要转录因子, 在模式植物拟南芥中有 75 个成员, 由于其 N- 末端含有高度保守的 WRKYGQK 氨基酸序列而得名。1994 年, Ishiguro 和 Nakamura^[1] 在甘薯中发现了第一个 WRKY 转录因子 SPF1, 随后又相继在野燕麦 (*Avena fatua*; ABF1, 2)^[2]、欧芹 (*Petroselinum crispum*; PcWRKY1, 2, 3)^[3]、拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*; ZAP1)^[4] 等植物中被发现。WRKY 结构域特异性识别 W-box 顺式作用元件, 与

之结合后会启动相关基因的表达来应答调控相关生理过程, W-box 多存在于抗病相关基因的启动子区域, 因此, 人们对于 WRKY 研究最多的就是它们的抗病相关机制。随着研究的不断发展深入, 人们发现, WRKY 不仅参与植物的抗病, 而且在损伤、衰老、发育、代谢物质调节等发面也都起到了重要的作用。到目前为止, 人们对 WRKY 的认识还处于起步阶段, 对于该家族的功能及其机理研究尚需

收稿日期: 2009-09-30; 修回日期: 2010-01-08

基金项目: 国家重大科学研究计划项目 (2007CB948203); 国家自然科学基金项目 (30970243, 30771116); 教育部博士点基金 (913111006); 山东省杰出青年基金 (QJ200810)

*通讯作者: Tel: 0531-88363629; E-mail: xfn0990@sdu.edu.cn

进一步地深入, WRKY 家族受到愈来愈多的关注。

1 WRKY 的结构

WRKY 家族最显著的特点就是至少含有一段大约 60 个氨基酸的 WRKY 保守结构域, 在该结构域的 N- 端, 几乎所有的成员都有 WRKYGQK 这样的 7 肽, 由此得名为 WRKY。此外, 在该结构域的 C- 端有一个新型的锌指结构: C_2-H_2 或者 C_2-HC 。

根据 WRKY 结构域的数量和锌指结构的组成可以将 WRKY 家族分成 3 类: I 类有两个 WRKY 结构域, 且有 $CX_{4-5}CX_{22-23}HX_1H$ 的锌指结构, 比如 SPF1、ABF1、*AtZAP1*、*PcWRKY1* 等。该类 WRKY 的两个结构域起主要作用的是 C- 端的 WRKY 结构域, 而 N- 端 WRKY 结构域的作用尚不清楚。II 类只有一个 WRKY 结构域, 其锌指结构同 I 类, 也是 $CX_{4-5}CX_{22-23}HX_1H$, 大多发现的 WRKY 都属于该类, 比如 *AtWRKY1*、*AtWRKY17*、*AtWRKY18*、ABF2、*PcWRKY3*、*NtWIZZ* 等。该类的 WRKY 结构域与 I 类的 N- 端 WRKY 结构域的相似性更高。III 类只有一个 WRKY 结构域, 但锌指结构特殊 ($CX_7CX_{23}HX_1C$), 比如 *NtWRKY4*、*NtWRKY5*、*AtWRKY53*、*AtWRKY70* 等。

WRKY 结构域除了含有上述的结构外, 还有核定位序列 NLS, 亮氨酸拉链 LZs 以及富含丝氨酸-苏氨酸, 富含谷氨酰胺域和富含脯氨酸域等结构^[5]。

2 W-Box

保守的 WRKY 结构域能特异性识别 (T) (T) TGAC (C/T) 序列, 该序列称为 W-Box, 其中 TGAC 是其不变的核心。实验表明, 该核心只要有一个氨基酸发生改变, WRKY 的结合性就会迅速下降, 甚至完全消失, 说明该核心对于 WRKY 结合的必要性。另外, 这种结合还需要 Zn^{2+} 等 2 价阳离子的参与以及磷酸化的过程^[6], 这与 WRKY 中的锌指结构是一致的, 实验表明, EDTA、碱性磷脂酶^[7]、蛋白激酶抑制剂星形包菌素等能够抑制这种结合。

W-Box 主要位于抗病相关基因的启动子区域, 而且数量有一个至多个不等, 它们的位置相近, 呈同向或者回文结构排列, 这些都有利于 WRKY 的结合。比如欧芹的 *PcWRKY1*, 其启动子有 3 个 W-Box, 它们位置靠近, 且 Wb 和 Wc 呈回文排列, 提高了 WRKY 与其结合的性能^[3]。

由上得知, WRKY 主要是通过特异性识别 W-Box, 启动调节相关基因的表达来应答各种诱导刺激, 从

而对植物起到调节作用。

3 WRKY 的多样化功能

作为近些年来发现的植物特异性重要转录因子, WRKY 家族参与植物的众多生理过程并且起到了关键作用, WRKY 转录因子家族是非组成型表达的, 它们受到许多因子的诱导, 比如 SA、病原诱导子、衰老、损伤、非生物胁迫(干旱、低温)等。另外, 植物某些器官的发育以及体内物质的代谢(糖)也受到 WRKY 的调控。WRKY 转录因子的表达具有迅速、短暂的特点, 并且具有组织特异性^[5]。到目前为止, 部分 WRKY 家族基因在抗病、损伤、衰老、生长发育以及非生物胁迫等方面的转录调控作用已被发现(表 1), 它们的多样化功能分述如下。

3.1 WRKY 在植物防御应答过程中的作用

植物受到病原菌的侵害后会启动自身免疫应答系统来防卫。免疫应答是一个错综复杂的过程, 涉及众多抗病相关基因的转录表达, WRKY 转录因子在这个过程中起到了重要的转录调节作用。

近来, 已从分子遗传水平上证明了拟南芥的 WRKY 是防御转录子和抗病的重要调节子。Dong 等^[38]研究了 72 个拟南芥的 WRKY 转录因子在植物抗病方面的作用, 发现其中的 49 个会受到病原菌 *Pseudomonas syringae* pv *tomato* (*Pst*) 和 SA 的诱导而产生表达变化, 进而调节相关基因的表达来参与拟南芥的抗病过程。*AtWRKY70* 是 SA 和 JA (jasmonic acid) 调节的防御信号途径的一个重要成员, 它受到 SA 的诱导和 JA 的抑制, 从而激活 SA 诱导基因, 抑制 JA 响应基因, 进一步地参与防御反应。当过表达 *AtWRKY70* 时, 会增加拟南芥对 *Pst* 的抗性, 反之, 如果抑制其表达, 就会增加拟南芥对 *E. c. carotovora* 的敏感性^[9]。另外, NPR1 是 SA 依赖的系统获得性抗性 (systemic acquired resistance, SAR) 的一个关键调节子, 一部分 WRKY 转录因子是它的转录靶目标^[10], 还有一部分位于它的上游来调节其表达^[11]。*AtWRKY70* 即位于 NPR1 的下游, 部分的受其调控^[9]。类似地, *AtWRKY62* 也受 NPR1 调控, 它负调 JA 响应基因的表达, 这种调节需要内源的 NPR1 和 SA 的参与^[12], *AtWRKY62* 的这种调节作用说明它很可能也是一个抗病转录因子。Zheng 等^[13]研究发现, 过表达 *AtWRKY33* 会增加拟南芥对致死寄生真菌 *Botrytis cinerea* 和 *Alternaria brassicicola* 的抗性, 但是过表达的 *AtWRKY33* 株系中, *PR1* 基因

表1 部分WRKY家族基因在各个方面的研究状况

Name	Pathogen	Senescence & defense	Development		Abiotic stress			Reference
			& Metabolism	Wound	Cold	Drought	Salinity	
<i>AtWRKY6</i>	√	√						[28, 29]
<i>AtWRKY17</i>	√						√	[17, 48]
<i>AtWRKY33</i>	√						√	[48, 49]
<i>AtWRKY38</i>	√							[19]
<i>AtWRKY44</i>				√				[32, 33]
<i>AtWRKY53</i>	√	√						[24-27]
<i>AtWRKY70</i>	√	√						[9-30]
<i>AtWRKY75</i>	√	√	√					[34]
<i>AtWRKY5</i>								*
<i>OsWRKY11</i>							√	[43]
<i>OsWRKY13</i>	√							[22]
<i>OsWRKY71</i>	√			√				[21, 35, 36]
<i>OsWRKY45</i>	√				√	√	√	[23]
<i>NtTIZZ</i>	√							[22]
<i>NtWIZZ</i>				√				[39]
<i>GaWRKY1</i>				√				[37]
<i>HvWRKY38</i>						√	√	[45]
<i>Sthp-6A</i>						√		[44]
<i>TcWRKY53</i>	√					√	√	[50]

*表示目前该基因相关研究尚未见报道

的表达下调, 并且更容易受到细菌病原菌的侵害, 表明它是通过下调SA调节的*PR1*基因使得植株更容易受到细菌病原菌侵害的。*AtWRKY52/RRS1*是一个非典型的TIR-NBS-LRR R蛋白, 它通过识别*Ralstonia solanacearum*的III型响应子PopP2而对它的几个菌株具有抗性^[14]。*AtWRKY18*、*AtWRKY40*、*AtWRKY60*是三个结构上非常相近的WRKY转录因子, Xu等^[15]研究表明, 它们在调节病原抗性方面具有很重要的作用, 功能上是部分冗余的, 双突变体*Atwrky18/Atwrky40*和*Atwrky18/Atwrky60*以及三突变体*Atwrky18/Atwrky40/Atwrky60*对*Pst*.DC3000具有更高的抗性, 但是更易受到寄生真菌*B. cinerea*的侵染; 但是, Wang等^[10]研究表明*AtWRKY18*是SAR的一个重要调节子, 而*AtWRKY40*似乎不参与SAR。*AtWRKY4*、*AtWRKY11*、*AtWRKY17*、*AtWRKY27*、*AtWRKY38*和*AtWRKY62*则是拟南芥抗病性的6个负调节转录因子, 过表达*AtWRKY4*的株系受到*Pst*.DC3000的侵染后会表现出比野生型更为严重的萎黄病, 而*Atwrky4*突变体萎黄的程度要远低于野生型^[16];*AtWRKY11*功能缺失突变体会增加对*Pst*的抗性, 而在*Atwrky11/Atwrky17*双突变体中, 这种抗性会增加^[17];*AtWRKY27*功能缺失突变

体对青枯菌(*Ralstonia solanacearum*)表现出极强的耐受能力^[18];*AtWRKY38*和*AtWRKY62*是通过与组蛋白去乙酰化酶19的互作来负调节拟南芥的基本防御^[19]。不仅在拟南芥中有抗病相关的WRKY转录因子, 其他的物种, 如烟草、水稻等都有相关的报道。Yoda等^[20]从烟草中克隆得到的*TIZZ*就是一个WRKY转录因子, 它能引发细胞的超敏反应, 但是该转录因子的特点是不受到SA的诱导, 说明它是一个不依赖SA的防御转录因子。在水稻中,*OsWRKY71*受到SA、MeJA(methyl jasmonate)、ACC(1-aminocyclo-propane-1-carboxylic acid)、病原侵染的诱导表达, *OsWRKY71*的过表达植株增加了对细菌病原菌*Xanthomonas oryzae pv. oryzae* (Xoo) 13751的抗性, 而且该植株中的*OsNPR1*和*OsPR1b*都持续表达, 说明*OsWRKY71*是位于*OsNPR1*上游的一个转录因子^[21]。Qiu等^[22]研究证明*OsWRKY13*能够调节SA和JA依赖途径中上游或下游的防御基因的表达来增加水稻对白叶枯病和稻瘟病的抗性。*OsWRKY45*受到abscisic acid (ABA)以及各种非生物胁迫(盐、旱、冷和渗透)的诱导而高表达, 同时也会受到病原菌侵染的诱导, 过表达该基因的水稻株系增强了对盐、干旱的耐受力, 同时也增加了对

Pst. DC3000的抗性^[23]。

总之, WRKY是植物防御反应中的一个重要转录因子家族, 它们通过不同的信号途径正调或者负调植物抗病相关基因, 从而表达对植物的自我防卫起到了很大作用(图1)。

3.2 WRKY在植物衰老过程中的作用

衰老是植物的一个自然生理过程, 在这个过程中有很多转录因子和相关基因参与, 植物特异性转录因子WRKY的部分成员也参与了这个过程并且具有很重要的作用。

*AtWRKY53*是一个叶片衰老早期阶段表达的转录因子^[24]。Miao等^[25]研究发现, *AtWRKY53*过表达的株系显示出了加速叶片衰老的现象, 相反, 在RNAi和插入突变的*AtWRKY53*抑制表达株系中, 叶片衰老的出现时间被相对延迟。这表明*AtWRKY53*在调节叶片衰老方面具有重要的作用。Murray等^[26]研究表明, *AtWRKY53*是一个抗病性相关的重要调控因子, 其功能缺失突变体更易受到*Pst*的感染, 反而对青枯菌却表现出较强的耐受性^[27]。这说明了该转录因子在抗病调控过程中具有双重性(正调控和负调控)。*AtWRKY6*是另外一个衰老相关的重要转录因子, 通过分析幼叶、成熟叶、衰老叶中*AtWRKY6*的表达水平发现, 在衰老的叶子中, *AtWRKY6*的表达水平远远高于前两者^[28]。SIRK是一个受体类似蛋白激酶, 它的表达水平在衰老的叶子中会特异的升高, Robatzek和Somssich^[29]研究表明, SIRK是*AtWRKY6*的直接目标, 在SIRK基因

的启动子区域, 有多个W-box, *AtWRKY6*通过结合这些W-box来调节SIRK的表达, 进一步来调节叶片衰老。另外, *AtWRKY6*还是一个病原相关的转录因子, 在*AtWRKY6*过表达和敲出系中, *PR1*的表达水平分别上调和下调了。不仅如此, 前面介绍过*AtWRKY70*是一个重要的病原防御转录因子, 近来的研究表明, 其同时也是一个衰老的负调节因子, *AtWRKY70*的功能缺失突变体会加速由正常发育和黑暗条件引起的衰老现象^[30]。由此表明, WRKY家族的功能具有多元化的特征。在分析小麦旗叶衰老的芯片信息中发现, WRKY家族基因明显的上调表达^[31], 说明WRKY转录因子在小麦旗叶衰老方面也具有重要的作用。

3.3 WRKY在植物发育及代谢中的作用

一些研究还表明, WRKY转录因子家族在植物生长发育及物质代谢方面也起到了非常重要的作用。

在拟南芥中, TTG2(*TRANSPARENT TESTA GLABRA2*)/*AtWRKY44*是研究得比较透彻的一个与表皮毛和种皮发育相关的转录因子, 它也是第一个被发现的与形态发生有关的WRKY转录因子。TTG2主要在表皮毛、种皮和根尖中表达, TTG1主要与表皮毛的起始发生有关, 通过

*pTTG2::GUS*在*ttg1*突变体中TTG2表达很低, 可以说明TTG2位于TTG1的下游, 且与GL2共同来调节表皮毛的分枝。*ttg2*突变体的表皮毛数量减半, 且大部分不分枝(野生型大都三分枝)。另外, 种皮中丹宁酸和植物胶的生产也受到TTG2的调节, 但是前者的调节是TTG1依赖的, 而后者则不依赖。TTG2还可能控制非毛细胞的发育^[32]。Ishida等^[33]通过酵母单杂交实验发现, 在根中, TTG2直接由R2R3 MYB转录因子调节, 他们还发现在TTG2表达受抑制的植株中, *GLABRA2*(*GL2*)的表达与野生型相比, 明显地下调, 而GL2的下调会导致不正常形态的根毛的形成。这些研究说明了TTG2在拟南芥形态发生中起到了很重要的作用。*AtWRKY75*是一个受病原菌诱导表达的转录因子, 一些芯片信息证明了它也参与到衰老过程中, 但最近的研究又发现, *AtWRKY75*通过负调节侧根和根毛的生长来调节根毛的发育^[34]。

Zhang等^[35]研究发现水稻糊粉层细胞中的*OsWRKY71*是一个GA信号途径的抑制因子, 它能与GA(Gibberellin)诱导的转录激活子*OsGAMYB*相互作用, 结合到 α -淀粉酶基因*Amy32b*启动子区域的

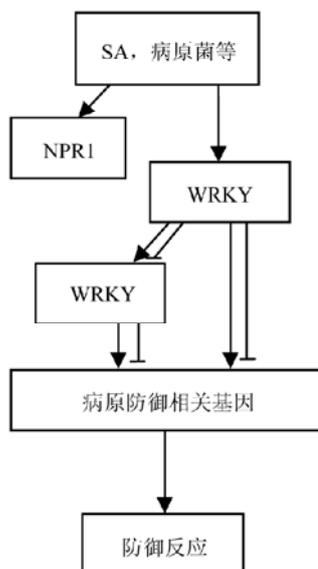


图1 WRKY病原防御简图

W-box 结合, 抑制它的转录。进一步的实验证明, 另外一个ABA诱导的转录因子 *OsWRKY51*, 虽然它本身不能与 *Amy32b* 的启动子区域结合, 但是它可以通过与 *OsWRKY71* 相互作用来增强 *OsWRKY71* 与 *Amy32b* 启动子区域的结合, 从而增强对 *Amy32b* 转录的抑制^[36]。 *GaWRKY1* 是棉花中一个代谢相关的转录因子, 它通过调节棉花(+)- δ -杜松烯合酶-A (CAD1-A) 的活性来进一步调节倍半萜烯类的生物合成^[37]。 *SUSIBA2* 是大麦的一个WRKY转录因子, 它能与糖代谢途径顺式作用原件SURE结合, 并与异淀粉酶基因 *IS01* 启动子区域的W-box结合, 参与淀粉合成的调节, 说明WRKY转录因子有可能参与了碳水化合物合成代谢^[38]。

WRKY 在植物发育代谢方面的研究尚未深入, 有待进一步地探索。

3.4 WRKY 在非生物胁迫中的作用

实验表明, WRKY 家族在非生物胁迫(如损伤、干旱、冷、盐等)条件下, 表达也会发生特异变化。这说明它们在这些过程中也具有重要的作用, 增强了植物适应复杂多变环境的能力。

烟草的WIZZ是一个WRKY转录因子, 它在机械损伤10 min左右, 表达开始上升, 到达30 min时间达到峰值, 随后下降到正常水平^[39]。烟草的WRKY3和WRKY6受到机械损伤和虫害特异信号的诱导表达, 进而潜在地或持久性地提高JA的水平来增强烟草的虫害特异性防御力^[40]。这说明了WRKY也参与了机械损伤的应答。而Rizhsky等^[41]发现烟草中的另外一个WRKY转录因子在干旱和热激共同作用时会上调表达, 但是单一的干旱或热激却不会改变它的表达。干旱方面, Pnueli等^[42]从沙漠豆类灌草植物中也克隆得到了干旱胁迫相关的WRKY基因。Wu等^[43]研究发现, *OsWRKY11* 受到热激和干旱胁迫的诱导, 并且在 *HSP101* 启动子的驱动下会增加水稻对热激和干旱的耐受力。对于冷胁迫, Huang和Duman^[44]从小癞茄中克隆了一个热滞(抗冻)蛋白(*sthp-64*)基因, 它在小癞茄中的表达是在很冷的11月和12月份, 说明了它在抗冷方面具有重要的作用, 通过蛋白序列分析发现它是一个WRKY转录因子。另外, 低温条件下, 大麦的 *HvWRKY38* 会通过非ABA依赖的途径早期暂时上调表达, 但是在冰冻条件和干旱的条件下, 该转录因子却会持续地上调表达, 表明了它在非生物胁迫调节方面的作用^[45]。Hwang等^[46]在分析辣椒中的基因在冷胁迫条件下的表达特性时也发现 *CaWRKY1* 受冷胁迫诱导

表达。最新的研究表明, *CaWRKY1* 作为病原防御的负调控因子受到病原侵染和SA的强烈诱导, 在病原刺激减弱的时间调节SAR的关闭^[50]。盐胁迫是非常重要的非生物胁迫, WRKY也参与了这一重要胁迫, Jiang和Deyholos^[48]在分析拟南芥根受到NaCl胁迫后的综合转录特征时发现他们分析的35个WRKY转录因子, 有18个上调了至少1.5倍。通过qRT-PCR(定量RT-PCR)分析发现, *AtWRKY17*和*AtWRKY33*上调至少14倍, 而*AtWRKY25*上调了22倍之多。后来进一步研究发现, *Atwrky25/Atwrky33*双突变体表现出适度的盐敏感性, 可能与该家族其他基因的功能冗余有关^[49]。我们的研究表明, 经200 mMNaCl诱导, *AtWRKY71*表达迅速暂时提高, 10 min开始响应, 到3 h达到峰值(5~6倍), 随后下降。除此以外, 过表达*AtWRKY71*后, 拟南芥由营养生长转入生殖生长的进程加快, 说明了该基因在发育方面也有作用(待发表)。最新研究发现, 天蓝遏蓝菜的 *TcWRKY53* 不仅受到NaCl、干旱、冷及SA的诱导, 重要的是, 把它转入烟草以后, 发现转基因的烟草幼苗根的发育对山梨醇的耐受力下降了, 无山梨醇条件下, 转基因植株和非转基因植株根的长度相似, 在5%的山梨醇条件下, 转基因植株和非转基因植株根的长度比对照(无山梨醇)短了分别79%和58%, 在5%山梨醇条件下, 转基因的植株根比非转基因植株根短了50%。这说明了 *TcWRKY53* 负调节渗透胁迫^[50]。

植物随时都会受到各种非生物胁迫的影响, 它们自身进化了一套完整的系统来调节应答, WRKY转录调节是其中的一中重要的方式, 但是, WRKY在非生物胁迫方面的研究有待拓宽深入。

4 展望

WRKY是植物特异的重要转录因子, 它们参与了植物的众多生理过程并且发挥了重要的作用, 通过现有的转基因、RNAi、基因芯片、反向遗传学等技术, 人们已经鉴定并验证了许多WRKY转录因子的功能, 它们主要与植物的抗逆、衰老、发育、代谢等有关, 但是对它们的作用机理及其功能的研究还处于初步阶段。随着时代的发展, 科技的进步, 将会有越来越多的新生物技术的出现, 因此, WRKY家族的作用机理及其功能会被逐步地阐明。它们在抗逆方面的重要作用, 将为我们创制抗逆作物新品系提供重要基因资源。

[参 考 文 献]

- [1] 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. *Mol Gen Genet*, 1994, 244(6): 563-71
- [2] Rushton PJ, Macdonald H, Huttly AK, et al. Members of a new family of DNA-binding proteins bind to a conserved cis-element in the promoters of α -Amy2 genes. *Plant Mol Biol*, 1995, 29(4): 691-702
- [3] Rushton PJ, Parniske M, et al. Interaction of elicitor-induced DNA-binding proteins with elicitor response elements in the promoters of parsley PR1 genes. *EMBO J*, 1996, 15(20): 5690-700
- [4] de Pater S, Greco V, Pham K, et al. Characterization of a zinc-dependent transcriptional activator from *Arabidopsis*. *Nucleic Acids Res*, 1996, 24(23): 4624-31
- [5] Eulgem T, Rushton PJ, Robatzek S, et al. The WRKY superfamily of plant transcription factors. *Trends Plant Sci*, 2000, 5(5): 199-206
- [6] Fukuda Y. Interaction of tobacco nuclear protein with an elicitor-responsive element in the promoter of a basic class I chitinase gene. *Plant Mol Biol*, 1997, 34(1): 81-7
- [7] Yang P, Wang Z, Fan B, et al. A pathogen- and salicylic acid-induced WRKY DNA-binding activity recognizes the elicitor response element of the tobacco class I chitinase gene promoter. *Plant J*, 1999, 18(2): 141-9
- [8] Dong J, Chen C, Chen Z. Expression profiles of the *Arabidopsis* WRKY gene superfamily during plant defense response. *Plant Mol Biol*, 2003, 51(1): 21-37
- [9] Li J, Brader G, Palva ET. The WRKY70 transcription factor: A node of convergence for jasmonate-mediated and salicylate-mediated signals in plant defense. *Plant Cell*, 2004, 16(2): 319-31
- [10] Wang D, Amornsiripanitch N, Dong X. A genomic approach to identify regulatory nodes in the transcriptional network of systemic acquired resistance in plants. *PLoS Pathog*, 2006, 2(11): e123
- [11] Yu D, Chen C, Chen Z. Evidence for an important role of WRKY DNA binding proteins in the regulation of NPR1 gene expression. *Plant Cell*, 2001, 13(7): 1527-40
- [12] Mao P, Duan M, Wei C, et al. WRKY62 transcription factor acts downstream of cytosolic NPR1 and negatively regulates jasmonate-responsive gene expression. *Plant Cell Physiol*, 2007, 48(6): 833-42
- [13] Zheng Z, Qamar SA, Chen Z, et al. *Arabidopsis* WRKY33 transcription factor is required for resistance to necrotrophic fungal pathogens. *Plant J*, 2006, 48(4): 592-605
- [14] Deslandes L, Olivier J, Peeters N, et al. Physical interaction between RRS1-R, a protein conferring resistance to bacterial wilt, and PopP2, a type III effector targeted to the plant nucleus. *PNAS*, 2003, 100(13): 8024-29
- [15] Xu X, Chen C, Fan B, et al. Physical and functional interactions between pathogen-induced *Arabidopsis* WRKY18, WRKY40, and WRKY60 transcription factors. *Plant Cell*, 2006, 18(5): 1310-26
- [16] Lai Z, Vinod K, Zheng Z, et al. Roles of *Arabidopsis* WRKY3 and WRKY4 transcription factors in plant responses to pathogens. *BMC Plant Biol*, 2008, 8:68
- [17] Journot-Catalino N, Somssich IE, Roby D, et al. The transcription factors WRKY11 and WRKY17 act as negative regulators of basal resistance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 2006, 18(11): 3289-302
- [18] Mukhtar MS, Deslandes L, Auriac MC, et al. The *Arabidopsis* transcription factor WRKY27 influences wilt disease symptom development caused by *Ralstonia solanacearum*. *Plant J*, 2008, 56(6): 935-47
- [19] Kim KC, Lai Z, Fan B, et al. *Arabidopsis* WRKY38 and WRKY62 transcription factors interact with histone deacetylase 19 in basal defense. *Plant Cell*, 2009, 21(9): 2357-71
- [20] Yoda H, Ogawa M, Yamaguchi Y, et al. Identification of early-responsive genes associated with the hypersensitive response to tobacco mosaic virus and characterization of a WRKY-type transcription factor in tobacco plants. *Mol Genet Genomics*, 2002, 267(2): 154-61
- [21] Liu X, Bai X, Wang X, et al. OsWRKY71, a rice transcription factor, is involved in rice defense response. *J Plant Physiol*, 2007, 164(8): 969-79
- [22] Qiu D, Xiao J, Ding X, et al. OsWRKY13 mediates rice disease resistance by regulating defense-related genes in salicylate- and jasmonate-dependent signaling. *MPMI*, 2007, 20(5): 492-99
- [23] Qiu Y, Yu D. Over-expression of the stress-induced OsWRKY45 enhances disease resistance and drought tolerance in *Arabidopsis*. *Environ Exp Bot*, 2009, 65(1): 35-47
- [24] Hinderhofer K, Zentgraf U. Identification of a transcription factor specifically expressed at the onset of leaf senescence. *Planta*, 2001, 213(3): 469-73
- [25] Miao Y, Laun T, Zimmermann P, et al. Targets of the WRKY53 transcription factor and its role during leaf senescence in *Arabidopsis*. *Plant Mol Biol*, 2004, 55(6): 853-67
- [26] Murray SL, Ingle RA, Petersen LN, et al. Basal resistance against *Pseudomonas syringae* in *Arabidopsis* involves WRKY53 and a protein with homology to a nematode resistance protein. *MPMI*, 2007, 20(11): 1431-8
- [27] Hu J, Barlet X, Deslandes L, et al. Transcriptional responses of *Arabidopsis thaliana* during wilt disease caused by the soil-borne phytopathogenic bacterium, *Ralstonia solanacearum*. *PLoS ONE*, 2008, 3(7): e2589
- [28] Robatzek S, Somssich IE. A new member of the *Arabidopsis* WRKY transcription factor family, AtWRKY6, is associated with both senescence- and defence-related processes. *Plant J*, 2001, 28(2): 123-33
- [29] Robatzek S, Somssich IE. Targets of AtWRKY6 regulation during plant senescence and pathogen defense. *Genes Dev*, 2002, 16(9): 1139-49
- [30] Ulker B, Shahid Mukhtar M, et al. The WRKY70 transcription factor of *Arabidopsis* influences both the plant senescence and defense signaling pathways. *Planta*, 2007, 226(1): 125-37
- [31] Gregersen PL, Holm PB. Transcriptome analysis of senescence in the flag leaf of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Biotechnol J*, 2007, 5(1): 192-206
- [32] Johnson CS, Kolevski B, Smyth DR. TRANSPARENT

- TESTA GLABRA2, a trichome and seed coat development gene of *Arabidopsis*, encodes a WRKY transcription factor. *Plant Cell*, 2002, 14(6): 1359-75
- [33] Ishida T, Hattori S, Sano R, et al. *Arabidopsis* TRANSPARENT TESTA GLABRA2 is directly regulated by R2R3 MYB transcription factors and is involved in regulation of GLABRA2 transcription in epidermal differentiation. *Plant Cell*, 2007, 19(8): 2531-43
- [34] Devaiah BN, Karthikeyan AS, Raghothama KG. WRKY75 transcription factor is a modulator of phosphate acquisition and root development in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2007, 143(4): 1789-801
- [35] Zhang ZL, Xie Z, Zou X, et al. A rice WRKY gene encodes a transcriptional repressor of the gibberellin signaling pathway in aleurone cells. *Plant Physiol*, 2004, 134(4): 1500-13
- [36] Xie Z, Zhang ZL, Zou X, et al. Interactions of two abscisic-acid induced WRKY genes in repressing gibberellin signaling in aleurone cells. *Plant J*, 2006 46(2): 231-42
- [37] Xu YH, Wang JW, Wang S, et al. Characterization of GaWRKY1, a cotton transcription factor that regulates the sesquiterpene synthase gene (+)-delta-cadinene synthase-A. *Plant Physiol*, 2004, 135(1): 507-15
- [38] Sun C, Palmqvist S, Olsson H, et al. A Novel WRKY transcription factor, SUSIBA2, participates in sugar signaling in barley by binding to the sugar-responsive elements of the iso1 promoter. *Plant Cell*, 2003, 15(9): 2076-92
- [39] Hara K, Yagi M, Kusano T, et al. Rapid systemic accumulation of transcripts encoding a tobacco WRKY transcription factor upon wounding. *Mol Gen Genet*, 2000, 263(1): 30-7
- [40] Skibbe M, Qu N, Galis I, et al. Induced plant defenses in the natural environment: *Nicotiana attenuata* WRKY3 and WRKY6 coordinate responses to herbivory. *Plant Cell*, 2008, 20(7): 1984-2000
- [41] Rizhsky L, Liang H, Mittler R. The combined effect of drought stress and heat shock on gene expression in tobacco. *Plant Physiol*, 2002, 130(3): 1143-51
- [42] Pnueli L, Hallak-Herr E, Rozenberg M, et al. Molecular and biochemical mechanisms associated with dormancy and drought tolerance in the desert legume *Retama raetam*. *Plant J*, 2002, 31(3): 319-30
- [43] 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. *Plant Cell Rep*, 2009, 28(1): 21-30
- [44] Huang T, Duman JG. Cloning and characterization of a thermal hysteresis (antifreeze) protein with DNA-binding activity from winter bittersweet nightshade, *Solanum dulcamara*. *Plant Mol Biol*, 2002, 48(4): 339-50
- [45] Marè C, Mazzucotelli E, Crosatti C, et al. Hv-WRKY38: a new transcription factor involved in cold- and drought-response in barley. *Plant Mol Biol*, 2004, 55(3): 399-416
- [46] Hwang EW, Kim KA, Park SC, et al. Expression profiles of hot pepper (*Capsicum annuum*) genes under cold stress conditions. *J. Biosci*, 2005, 30(5): 657-67
- [47] Oh SK, Baek KH, Park JM, et al. *Capsicum annuum* WRKY protein CaWRKY1 is a negative regulator of pathogen defense. *New Phytol*, 2008, 177(4): 977-89
- [48] Jiang Y, Deyholos MK. Comprehensive transcriptional profiling of NaCl-stressed *Arabidopsis* roots reveals novel classes of responsive genes. *BMC Plant Biol*, 2006, 6:25
- [49] Jiang Y, Deyholos MK. Functional characterization of *Arabidopsis* NaCl-inducible WRKY25 and WRKY33 transcription factors in abiotic stresses. *Plant Mol Biol*, 2009, 69(1-2): 91-105
- [50] Wei W, Zhang Y, Han L, et al. A novel WRKY transcriptional factor from *Thlaspi caerulescens* negatively regulates the osmotic stress tolerance of transgenic tobacco. *Plant Cell Rep*, 2008, 27(4): 795-803