

WRKY 转录因子调控植物养分吸收利用 及重金属解毒的研究进展

邓雅茹¹, 柳燕¹, 吴丽霞¹, 李方剑^{1,2}, 李铁梅³, 王金祥^{1,2*}

(1 华南农业大学资源环境学院 / 根系生物学研究中心, 广东广州 510642; 2 广东省农业农村污染治理与
环境安全重点实验室, 广东广州 510642; 3 华南农业大学图书馆, 广东广州 510642)

摘要: WRKY 蛋白是植物特有的一类重要转录调控因子, 它们通过与下游基因启动子上的 W-box 元件特异性结合诱导或抑制相关基因的表达, 从而调控植物生长发育以及植物对生物和非生物胁迫的响应。植物 WRKY 基因组数目多, 在拟南芥、大豆和水稻基因组中已经分别鉴定出 74、182 和 109 个, 在植物对干旱、盐害、高温、养分匮乏和病原体感染等各种生物、非生物胁迫的响应过程中起关键作用。例如 *AtWRKY45* 和 *AtWRKY75* 参与调控拟南芥应答低磷养分胁迫, *GmWRKY142* 正向调控拟南芥对镉胁迫的耐受性。在植物面对逆境胁迫时, WRKY 蛋白通过与养分相关基因启动子的 W-box 元件特异性结合, 进而实现自我调节或交叉调节, 激活或抑制下游基因的转录以应对各种逆境胁迫。众多 WRKY 下游靶基因也已被鉴定出来, 例如 PHT 家族成员与磷营养相关; 3 个拟南芥 WRKY 基因和 6 个大豆 WRKY 基因参与调控植物对氮素的吸收利用; 6 个拟南芥 WRKY 基因、10 个大豆 WRKY 基因和 5 个水稻 WRKY 基因调节植物应对低磷胁迫; 2 个拟南芥 WRKY 基因和 6 个大豆 WRKY 基因影响植物对钾的吸收利用; 3 个大豆 WRKY 基因参与调控植物对硫营养的吸收利用; 1 个拟南芥 WRKY 基因调控植物吸收利用硼; 1 个拟南芥 WRKY 基因和 1 个水稻 WRKY 基因参与植物对铁的吸收; 7 个拟南芥 WRKY 基因、1 个大豆 WRKY 基因和 1 个水稻 WRKY 基因参与植物解镉毒; 2 个拟南芥 WRKY 基因、2 个大豆 WRKY 基因和 1 个水稻 WRKY 基因帮助植物解铝毒。未来的研究重点是: 1) 挖掘新的调控养分吸收利用的 WRKY 转录因子及其靶基因; 2) 解析养分相关 WRKY 在翻译和翻译后层面的调控; 3) 明确表观遗传层面对养分相关 WRKY 的转录调控; 4) 揭示养分逆境条件下 WRKY 互作蛋白及其作用机制。

关键词: WRKY 转录因子; 养分吸收; 镉毒; 铝毒; 调控机制

Functions of plant WRKY transcription factors in nutrient uptake and utilization as well as detoxification of heavy metals

DENG Ya-ru¹, LIU Yan¹, WU Li-xia¹, LI Fang-jian^{1,2}, LI Tie-mei³, WANG Jin-xiang^{1,2*}

(1 College of Natural Resources and Environment & Root Biology Center, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China; 2 Key Laboratory of Agricultural and Rural Pollution Control and Environmental Safety in Guangdong Province, Guangzhou, Guangdong 510642, China; 3 South China Agricultural University Library, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China)

Abstract: WRKY proteins are a group of important transcriptional regulators that are unique to plants. WRKY specifically bind with the W-box *cis*-elements in the promoters of downstream genes to induce or inhibit the transcription and expression of related genes, to regulate plant growth and development, as well as responses to biotic and abiotic stresses. The WRKY gene family is large in number, there are 74 identified WRKY genes in *Arabidopsis* genome, 182 genes in soybean genome and 109 genes in rice genome, respectively. WRKY genes play pivotal roles in plant response to various biological and abiotic stresses such as drought, salinity, high temperature, nutrient deficiencies, and pathogen infection. Up to now, it has been proved that the *AtWRKY45* and

收稿日期: 2023-04-07 接受日期: 2023-07-14

基金项目: 国家重点研发项目 (2021YFF1000500)。

联系方式: 邓雅茹 E-mail: 1356988795@qq.com; * 通信作者 王金祥 E-mail: jinxwang@scau.edu.cn

AtWRKY75 are involved in regulating the responses of *Arabidopsis* to low P stress, *GmWRKY142* positively regulates the tolerance of *Arabidopsis* to Cd stress. When exposure to stress, the plant WRKY protein specifically binds to the W-box *cis*-element in the conserved region of the related gene promoter, thereby achieves self-regulation or cross regulation, then activates or inhibits the transcriptional expression of downstream genes in response to various stress conditions. Numerous downstream target genes have also been revealed consequently, such as the PHT family members related to P nutrition; three *AtWRKY* genes and six *GmWRKY* genes are involved in regulating plant nitrogen uptake and utilization; six *AtWRKY* genes, ten *GmWRKY* genes, and five *OsWRKY* genes regulate plant response to phosphorus deficiency; two *AtWRKY* genes and six *GmWRKY* genes affect plant potassium absorption and utilization; three *GmWRKY* genes are involved in regulating the absorption and utilization of sulfate; one *AtWRKY* gene is involved in regulating the uptake and utilization of boron; one *AtWRKY* gene and one *OsWRKY* gene are involved in regulating plant iron absorption; seven *AtWRKY* genes, one *GmWRKY* gene, and one *OsWRKY* gene are involved in mitigating cadmium toxicity; two *AtWRKY* genes, two *GmWRKY* genes, and one *OsWRKY* gene participate in helping plants detoxify aluminum toxicity. The foci of future researches are: 1) mining new WRKY transcription factors that regulate nutrient uptake and utilization and the downstream genes; 2) decoding the regulation of nutrient-related WRKYs at the translation and post-translation level; 3) determining the transcription of nutrient-related WRKY at epigenetic level; 4) revealing the proteins that interact with WRKY and the underlying mechanisms under nutrient deficiency.

Key words: WRKY transcription factor; nutrient uptake; Cd toxicity; Al toxicity; regulatory mechanism

植物主要从土壤中获取营养物质来保证其生长发育。在整个生命进程中, 植物会遇到各类不利于自身生长发育的环境条件, 比如因土壤养分亏缺或有毒元素过量无法维持其正常生理活动。为了适应这类非生物胁迫的影响, 植物进化出了精细复杂的生理和分子机制来调节自身对外界环境变化的响应^[1]。转录因子(transcription factor, TF)是植物信号通路的重要组分, 它是一类能与 DNA 序列特异性结合的蛋白, 可以在细胞核激活或抑制下游基因的转录, 在植物各个生长发育阶段协调应对不同环境和内部信号^[2]。根据 TF 与 DNA 结合区域的不同, 可以将它们划分为不同的基因家族, 植物中比较典型的有 WRKY、MYB、bZIP、bHLH、NAC 等 TF 家族^[3], 它们都在植物的生长发育阶段和响应胁迫、抗病抗虫等方面发挥着重要的生物学功能。

植物基因组编码转录因子的基因较多, 目前发现拟南芥和水稻基因组分别编码约 2100 和 2300 个转录因子^[4]。WRKY 转录因子是植物所特有的, 是调控植物适应生物和非生物逆境的最大基因家族之一。1994 年, 科学家们首次在甘薯 (*Ipomoea batatas*) 的块根发现植物中第一个编码 WRKY 蛋白的基因 *SPF1* (*SWEET POTATO FACTOR 1*) 的 cDNA, 并将其分离出来^[5]。自那以后, 越来越多的 WRKY 家族成员陆续从其他植物中被鉴定出来。到目前为止,

拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*)、大豆 (*Glycine max*) 和水稻 (*Oryza sativa*) 基因组中分别有 74、182 和 109 个 WRKY 家族成员被鉴定出来^[6-8]。大量的研究证明, WRKY 家族的转录因子在调节植物生长发育、应对各种环境胁迫方面具有举足轻重的作用。WRKY 参与调控植物在不同发育阶段遇到的各种生物胁迫与非生物胁迫响应, 如干旱^[9]、盐害^[10]、寒冷^[9]、高温^[11]、养分匮乏、病原体感染^[12]等。例如 *AtWRKY33* 和 *GmWRKY144* 等转录因子被证明参与调控拟南芥和大豆应对盐胁迫^[13-14], 拟南芥 WRKY45 和 WRKY75 调控应答低磷养分胁迫^[15-16], 拟南芥 WRKY53、WRKY54 和 WRKY70 通过参与同一个调控网络来调节叶片的衰老过程^[17], 水稻的 WRKY45 参与调节水稻对稻瘟病的抗性免疫反应^[18-19]。

显然, 深入解码 WRKY 是如何调控植物应答养分胁迫以及重金属毒害的生理和分子机制具有重要的理论意义, 对于环境友好型和资源节约型低碳农业的发展, 以及保障粮食和食品安全方面具有重要的实践意义。鉴于有关 WRKY 在拟南芥、大豆、水稻等植物氮、磷、钾、硫、硼等养分吸收利用以及响应镉毒铝毒等方面的研究较多, 因此本文将主要聚焦综述近年来 WRKY 转录因子在调控植物吸收利用氮、磷、钾、硫、硼等养分以及应对镉毒铝毒等方面的研究进展。

1 WRKY 转录因子的结构特征

1.1 WRKY 的结构

转录因子能够通过与其基因 5' 端上游启动子内某些特定结构 (如上游的调控元件) 特异性结合, 抑制或诱导目的基因的表达, 最终促使植物对外界信号做出反应。WRKY 转录因子一般含 1 个由约 60 个氨基酸组成的 WRKY 结构域^[19]。其 N 端是一个由绝对保守的七肽 WRKYGQK 组成的氨基酸基序, 其中前 4 个氨基酸 “WRKY” 为保守结构域中的最高保守区域 (图 1), 故将这类蛋白质家族简称为 WRKY 家

族^[20]。肽链中氨基酸残基的特征基团通过与 Zn^{2+} 结合, 形成指状的多肽空间构型, 称为 “锌指结构”, 具有此类结构的蛋白一般与调控基因表达相关。WRKY 转录因子的 C 端有一个为 C_2H_2 型 ($C-X_{4-5}-C-X_{22-23}-H-X_1-H$) 或者 C_2-HC 型 ($C-X_7-C-X_{23}-H-X_1-C$) 的锌指蛋白结构 (图 2)^[21]。

1.2 WRKY 下游基因启动子区的 W-box 顺式元件

研究揭示, WRKY 蛋白通过靶基因启动子中的顺式作用元件 W-box ($5'-[T]TGAC[C/T]-3'$) 与 DNA 进行特异性结合, 诱导或抑制下游基因的表达, 发挥转录调控功能, 其中 “TGAC” 被称为不变的核心

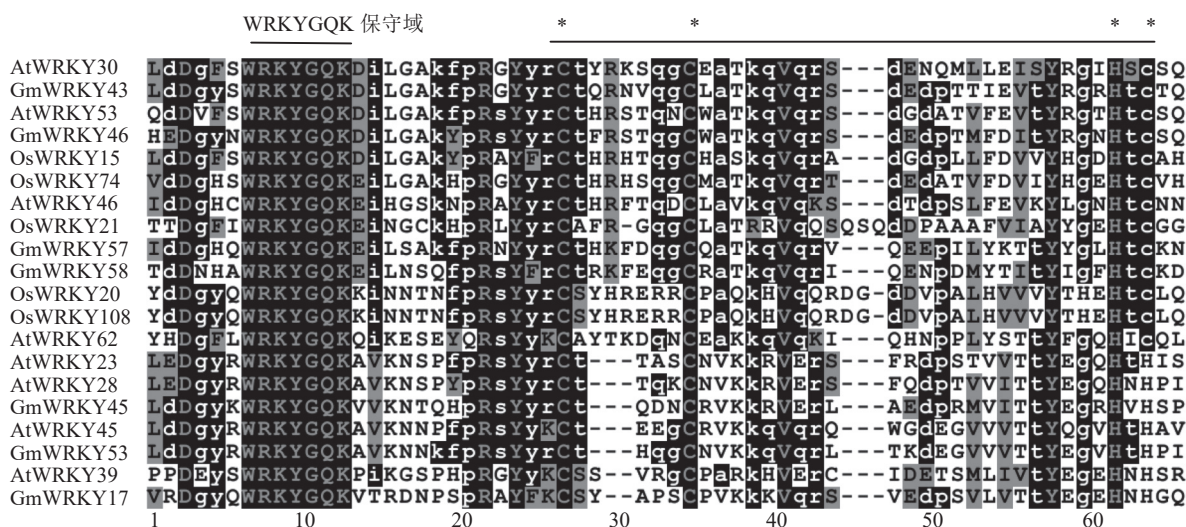


图 1 WRKY 的保守结构域

Fig. 1 Conserved domains of WRKY

注: 图片上 4 个 * 号分别指保守半胱氨酸 (C)、半胱氨酸 (C)、组氨酸 (H)、组氨酸 (H) 或半胱氨酸 (C) 结构域。

Note: The four asterisks “*” above the maps indicate the domain of conservative cysteine (C), cysteine (C), histidine (H), and histidine (H) or cysteine (C), respectively.

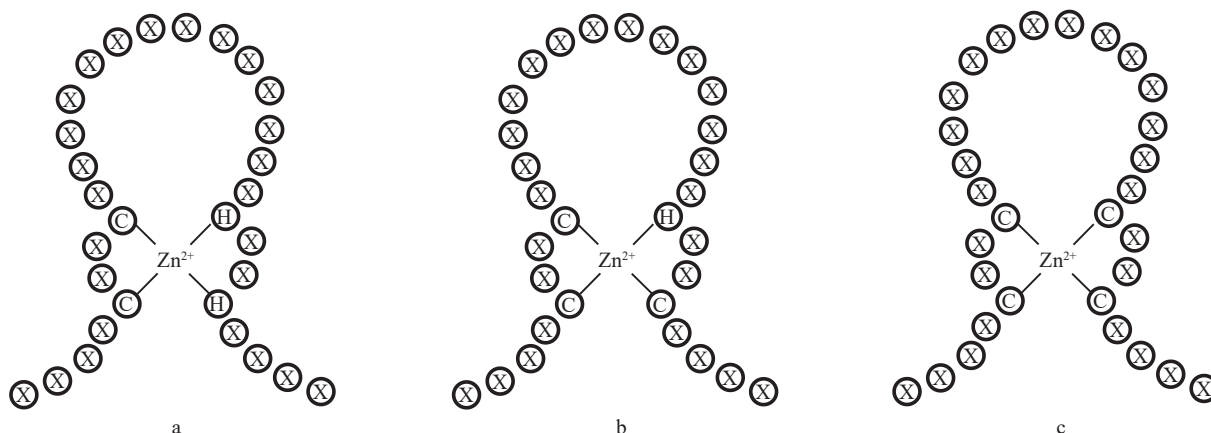


图 2 植物中常见的锌指结构

Fig. 2 Zinc finger structure of commonly found in plants

注: a 为 C_2H_2 型, b 为 C_2HC 型, c 为 C_2C_2 型; C 为半胱氨酸, H 为组氨酸, X 可以是任意的氨基酸。

Note: a, C_2H_2 type; b, C_2HC type; c, C_2C_2 type. C represents cysteine, H represents histidine, and X can be any amino acid.

序列^[21]。研究揭示, WRKY 转录因子主要通过 W-box 的特异性结合, 调控相关基因的表达而影响植物的生长发育, 因此 W-box 可以用于预测 WRKY 的靶基因。有研究表明, 若 WRKY 结构域中的保守序列 WRKYGQK 突变或 W-box 中的任一核苷酸发生改变, WRKY 与 DNA 的结合活性就会很大程度地降低甚至消失, 而 C 端的锌指结构中保守的半胱氨酸 (cysteine, Cys) 和组氨酸 (histidine, His) 残基被取代则会消除它们的 DNA 结合活性^[22]。不同的 WRKY 转录因子, 结合的 W-box 附近的序列也存在差异, 这会在一定程度上影响 WRKY 转录因子结合的选择性和强度^[23]。

1.3 WRKY 的分类

尽管 WRKY 转录因子中的各种结构都是高度保守的, 但是根据其所结合的结构域数量以及锌指结构类型的不同, 其与 DNA 的结合都会发生变化。可以将 WRKY 转录因子分为 3 大类, 其中最大的类群是第 II 类^[14]。第 I 类的 WRKY 转录因子含有两个 WRKY 结构域和 C₂H₂ 型的锌指结构, 此类 WRKY 转录因子主要是通过 C 端的 WRKY 结构域与 W-box 进行特异性结合^[24], 比如 SPFI、AtWRKY45 等转录因子。第 II 类的 WRKY 转录因子含有一个 WRKY 结构域和 C₂H₂ 型的锌指结构, 比如 AtWRKY42、GmWRKY75 等转录因子。此外, 根据不同的氨基酸序列, 可以将第 II 类 WRKY 转录因子进一步划分为 IIa、IIb、IIc、IId、IIe 等 5 个亚组^[25]。第 III 类的 WRKY 转录因子含有 1 个 WRKY 结构域和 C₂-HC 型的锌指结构^[26], 比如 AtWRKY46、GmWRKY58、OsWRKY74 等转录因子。在拟南芥 WRKY 蛋白中, 32 个 WRKY 属于第 I 类, 26 个属于第 II 类, 14 个属于第 III 类^[27]。32 个大豆 WRKY 属于第 I 类, 130 个属于第 II 类, 26 个属于第 III 类^[28]。WRKY 家族中 3 个亚类的 WRKY 均能与靶基因启动子区域中的顺式元件 W-box 特异性结合来调控下游基因的表达。

2 WRKY 在调控植物养分吸收利用过程中的作用

近年研究发现, GmWRKY31 与 GmHDL56 的互作会增强大豆对疫霉根腐病的抗性^[29]。GmWRKY54 转入拟南芥后, 可以通过对 DREB2A 和 STZ/Zat10 等基因进行调控, 提高拟南芥对盐胁迫和干旱的抗性^[30]。StWRKY45 参与调控柱花草 (*Stybsanthus guianensis*) 响应低磷胁迫^[31]。鉴于有关 WRKY 在调节植物生长

发育和生物逆境方面的研究较多, 本文主要介绍拟南芥、大豆和水稻的 WRKY 转录因子在植物吸收利用氮、磷、钾、硫等养分以及响应镉毒、铝毒等胁迫的重要调控作用。

2.1 WRKY 调控氮营养

氮 (N) 是植物生长发育过程中最重要的大量营养元素之一, 是植物体内蛋白质、叶绿素、核酸和各种生物酶等许多重要有机化合物的组成成分, 在各个方面影响着植物的代谢和生长发育过程。植物主要通过根系来获取土壤中以硝态氮 (NO₃⁻) 和铵态氮 (NH₄⁺) 形式存在的无机氮养分。而土壤中能直接被植物直接利用的无机氮仅占总量的 1%~2%, 且无机氮容易淋失和挥发, 还会被土壤中的粘土矿物和有机质固定, 所以土壤中的有效氮对植物来说是远远不够的。因此, 了解 WRKY 在植物吸收氮素过程中的调控作用具有实际意义。

调控植物应对养分胁迫和镉毒铝毒的 WRKY 家族成员见表 1。拟南芥 WRKY1 的表达受到有机氮处理的抑制而被氮饥饿激活^[32-33], 低氮处理 1、3 h 会使 AtWRKY31 的表达量显著下降^[34], AtWRKY72 在低氮处理 3 h 后表达量显著下调且 Atwrky72 突变体在低氮处理下主根延伸长度显著变短, 且 AtWRKY72 蛋白不仅能与自身互作, 还可以与 AtWRKY36、AtWRKY61 等多个转录因子相互作用, 共同参与调控在低氮胁迫下拟南芥的响应过程^[35]。在低氮处理 24 h 后, GmWRKY6 和 GmWRKY75 的表达量会达到最高^[36]; 低氮处理下, GmWRKY7、GmWRKY8、GmWRKY15 在叶部均受上调表达, GmWRKY7 和 GmWRKY15 在根部均受上调表达, 而 GmWRKY8 则受下调表达^[37]; GmWRKY58 通过诱导自身启动子区域中的 TC-rich repeats (-ATTTTCTCCA-) 顺式元件, 激活下游与低氮胁迫有关的基因表达, 其中低氮处理 24 h 的大豆植物根部中, GmWRKY58 的表达量最高^[38]。

2.2 WRKY 调控磷营养

磷 (P) 是植物生长发育所必需的大量营养元素。它不仅是植物体内核酸和腺苷三磷酸 (adenosine triphosphate, ATP)、氨基转移酶等重要磷化合物的组分, 同时还参与植物体内光合作用、呼吸代谢、能量转化、信号转导等各种生理过程, 是植物完成整个生命周期所不可缺少的元素。土壤是植物获取磷营养的主要来源, 但是施入土壤的很大一部分磷会被紧密地固定在土壤颗粒表面或以有机磷的形式被固定, 因此土壤中无机磷的有效性和移动性很差,

表 1 调控植物应对养分胁迫和镉毒铝毒的 WRKY 家族成员

养分胁迫类型	基因名称	WRKY类别	表达模式	下游基因	参考文献
Types of nutrient stress	Gene name	WRKY category	Expression pattern	Downstream genes	References
氮 N	<i>AtWRKY1</i>	I	+	-	[32–33]
	<i>AtWRKY31</i>	II b	–	-	[34]
	<i>AtWRKY72</i>	II b	–	-	[35]
	<i>GmWRKY6</i>	II b	+	-	[36]
	<i>GmWRKY75</i>	II c	+	-	[36]
	<i>GmWRKY7</i>	II a	+	-	[37]
	<i>GmWRKY8</i>	II a	叶Leaf+; 根Root –	-	[37]
	<i>GmWRKY15</i>	II a	+	-	[37]
	<i>GmWRKY58</i>	III	+	-	[38]
磷 P	<i>AtWRKY6</i>	II b	–	<i>PHO1</i> , <i>PHT1</i>	[39–42]
	<i>AtWRKY42</i>	II b	–	<i>PHO1</i> , <i>PHT1</i>	[39–41]
	<i>AtWRKY28</i>	II c	+	<i>PHO1</i> , <i>PHT1</i>	[43]
	<i>AtWRKY33</i>	-	–	<i>ALMT1</i>	[44]
	<i>AtWRKY45</i>	I	+	<i>PHT1</i>	[15]
	<i>AtWRKY75</i>	II c	+	-	[16]
	<i>GmWRKY6</i>	II b	+	<i>GmPT5/7/8</i>	[36, 45–46]
	<i>GmWRKY21</i>	-	+	-	[45]
	<i>GmWRKY53</i>	II c	+	-	[45]
	<i>GmWRKY63</i>	-	+	-	[45]
	<i>GmWRKY75</i>	II c	+	<i>PAP22-1</i>	[36, 45, 47]
	<i>GmWRKY7</i>	II a	+	<i>ALMT1</i>	[37]
	<i>GmWRKY8</i>	II a	+	-	[37]
	<i>GmWRKY15</i>	II a	+	-	[37]
	<i>GmWRKY45</i>	II	+	-	[48]
	<i>GmWRKY46</i>	III	–	-	[49]
	<i>OsWRKY10</i>		–	<i>PHT1</i> ;2	[50]
	<i>OsWRKY28</i>	II a	+	-	[51]
	<i>OsWRKY21</i>	-	+	<i>PHT1</i> ;1	[52]
	<i>OsWRKY108</i>	-	+	<i>PHT1</i>	[52]
	<i>OsWRKY74</i>	III	+	<i>PHT1</i>	[53]
	<i>PtoWRKY40</i>	-	–	<i>PHR1s</i>	[54]
	<i>PtoWRKY65</i>	-	+	<i>PHR1</i> ;9	[55]
	<i>PtoWRKY6</i>	-	+	<i>PHR1</i> ;9	[55]
	<i>GbWRKY1</i>		+	<i>LPR1</i>	[56]
钾 K	<i>AtWRKY31</i>	II b	+	-	[34]
	<i>AtWRKY61</i>	II b	+	-	[57]
	<i>GmWRKY6</i>	II b	+	-	[36]

续表 1 Table 1 continued

养分胁迫类型	基因名称	WRKY类别	表达模式	下游基因	参考文献
Types of nutrient stress	Gene name	WRKY category	Expression pattern	Downstream genes	References
硫 S	<i>GmWRKY75</i>	II c	+	-	[36]
	<i>GmWRKY7</i>	II a	+	-	[37]
	<i>GmWRKY8</i>	II a	+	-	[37]
	<i>GmWRKY15</i>	II a	新叶 Young leaf +; 老叶 Old leaf -	-	[37]
	<i>GmWRKY50</i>	II b	+	-	[58]
	<i>GmWRKY7</i>	II a	叶 Leaf +; 根 Root -	-	[37]
	<i>GmWRKY8</i>	II a	叶 Leaf +; 根 Root -	-	[37]
	<i>GmWRKY15</i>	II a	叶 Leaf +	-	[37]
硼 B	<i>AtWRKY6</i>	II b	+	<i>NIP5;1</i>	[59]
铁 Fe	<i>AtWRKY46</i>	III	+	<i>NAS2, VITL1</i>	[60]
	<i>OsWRKY80</i>	-	+	-	[61]
镉 Cd	<i>AtWRKY12</i>	-	-	-	[62]
	<i>AtWRKY13</i>	II c	+	<i>AtPDR8</i>	[63]
	<i>AtWRKY33</i>	-	+	<i>ATL31</i>	[64]
	<i>AtWRKY18</i>	-	+	-	[65]
	<i>AtWRKY40</i>	-	+	-	[65]
	<i>AtWRKY60</i>	-	+	-	[65]
	<i>AtWRKY47</i>	II b	+	GSH途径 GSH way	[66]
	<i>GmWRKY142</i>	-	+	<i>ATCDT1, GmCDT1-1, GmCDT1-2</i>	[67]
铝 Al	<i>OsWRKY15</i>	III	+	NO, ABA途径 NO, ABA way	[68]
	<i>PyWRKY75</i>	-	+	GSH, PCs途径 GSH, PCs way	[69]
	<i>AtWRKY46</i>	III	+	<i>ALMT1</i>	[70]
	<i>AtWRKY47</i>	II b	+	<i>ELP, XTH17</i>	[71]
	<i>GmWRKY21</i>	II c	+	<i>ALMT1, STOP1, ALS3, MATE, COR47, et al</i>	[72]
	<i>GmWRKY81</i>	-	+	-	[73]
	<i>OsWRKY22</i>	-	+	<i>OsFRDL4</i>	[74]

注: “+”代表正向调控, “-”代表负向调控, “-”代表未查询到相关进展。
Note: “+” represents positive regulation, “-” represents negative regulation, and “-” represents no relevant progress has been found.

植物难以吸收利用^[75]。

在拟南芥中, AtWRKY6 和 AtWRKY42 协同互作, 通过与拟南芥中磷酸根转运子基因 *PHOSPHATE1* (*AtPHO1*) 启动子中的 W-box 元件结合来抑制 *AtPHO1* 表达, 从而调节拟南芥响应低磷胁迫^[39-40]。缺磷会促进 26S 蛋白酶体对 AtWRKY6 和 AtWRKY42 的降解作用, 因此 AtWRKY6 与 AtWRKY42 在负调控 *AtPHO1* 的表达时存在功能冗余, 但二者对 *AtPHT1;1* 的调控机制又存在差异^[41]。E3 泛素连接酶 PRU1 (phosphate response ubiquitin E3 ligase1) 促进 AtWRKY6 降解, 介导低磷条件下磷从植物地下部到地上部的转移^[42]。AtWRKY28 在低磷胁迫下通过正向调控 *AtPHO1* 和 *AtPHT1;4* 的表达参与磷的转运和吸收, 在正常供磷条件下通过正向调控 *AtPHT1;1* 参与磷的吸收^[43]。AtWRKY33 在缺磷条件下通过控制 *ALMT1* 的转录来负调控根结构的重塑, 以调节磷缺乏反应^[44]。过表达 *AtWRKY45* 会增加磷的含量, 且 AtWRKY45 通过直接上调 *AtPHT1;1* 的转录来调节拟南芥对磷饥饿的响应^[15]。AtWRKY75 能影响拟南芥根系构型的改变, *AtWRKY75* 受低磷上调表达, 其

表达被干扰后植株对磷的吸收速率明显下降^[16], 但 *AtWRKY45* 会负调控 *AtWRKY75* 的表达。

最近, 一些大豆 *WRKY* 调控磷营养的作用被初步揭示。大豆 *GmWRKY6*、*GmWRKY21*、*GmWRKY53*、*GmWRKY63*、*GmWRKY75* 等参与大豆响应低磷胁迫^[45]。在拟南芥异源超表达 *GmWRKY6* 和 *GmWRKY75* 提高其对磷的吸收, 增强对低磷胁迫的耐受性^[36]。*GmERF1* 编码一个乙烯响应转录因子, 主要在大豆根中表达, 且受低磷诱导, *GmWRKY6* 也受低磷诱导。*GmPT5*、*GmPT7*、*GmPT8* 的启动子区域存在 W-box 元件, *GmWRKY6* 通过结合 *GmPT5*、*GmPT7*、*GmPT8* 的启动子抑制其转录, 而 *GmERF1* 与 *GmWRKY6* 发生互作而促进 *GmWRKY6* 抑制 *GmPT5*、*GmPT7*、*GmPT8* 等磷响应下游靶基因的转录, 抑制大豆对磷的吸收利用, 因此 *GmWRKY6* 是一个负调控因子^[46]。*GmWRKY75* 会与 *GmPAP22-1* 互作, 超表达 *GmWRKY75* 会降低 *GmPAP22-1* 的表达水平^[47]。低磷胁迫下, *GmWRKY7*、*GmWRKY8*、*GmWRKY15* 在叶部和根部的表达量均被上调, 其中 *GmWRKY7* 通过与 *GmALMT1* 的启动子结合可以减少磷缺乏条件下转基因拟南芥对花青素的积累^[37]。低磷处理下, *GmWRKY45* 的表达随胁迫时间的延长而显著增加, 且在根中的表达水平高于叶, 在拟南芥中过量表达 *GmWRKY45* 会增强其对低磷胁迫的耐受性, 生长状况明显优于野生型。这可能是通过促进植物侧根发育和改变磷响应基因的表达来实现的^[48]。*GmWRKY46* 主要在大豆根中表达, 并受到低磷的强烈诱导, RNA 干涉 *GmWRKY46* 提高毛状根的增殖、伸长和磷吸收效率, 提高大豆耐低磷能力^[49]。

当水稻处于磷养分充足的条件下, *OsWRKY10* 会通过负向调节 *OsPHT1;2* 的表达来减少自身对磷的吸收, 而在外界供给磷匮乏时, *OsWRKY10* 蛋白会被 26S 蛋白酶体降解^[50]。*OsWRKY28* 通过调节茉莉酸介导的根系结构来增加对磷的积累^[51]。*OsWRKY21* 和 *OsWRKY108* 在核内互作, 与 *OsPHT1;1* 中的 W-box 元件结合, 通过磷依赖方式维持 *OsPHT1;1* 的组成型表达, 调控水稻的磷稳态^[52]。*OsWRKY74* 受磷饥饿的正向调控, 低磷条件下超表达 *OsWRKY74* 会使植物形成更大的根系结构以增强对缺磷的耐受, 还会通过调节一些磷饥饿诱导基因, 例如 *PHT1* 来调节水稻的磷稳态^[53]。

在低磷胁迫下, 毛白杨 (*Populus tomentosa*) *PtoWRKY40* 的表达水平显著下调, *PtoWRKY40* 蛋白被降解。*PtoWRKY40* 通过与 *PtoPHL3* 相互作用抑制

杨树磷转运蛋白 *PtoPHR1s* 的表达, 进而负调控杨树对磷缺乏的耐受能力^[54]。杨树 (*Populus tremula*) *WRKY65* 和 *WRKY6* 通过与 *PHR1;9* 中的 W-box 特异性结合来调控基因表达, 而 *PHR1;9* 能增加磷从根到顶芽的运输, 过量表达杨树 *WRKY65* 和 *WRKY6* 能增强杨树对低磷胁迫的耐受性^[55]。在拟南芥中过表达棉花 (*Anemone vitifolia* Buch) 的 *GbWRKY1*, 其依赖 *LPR1* (low phosphate response 1) 响应低磷信号, 通过增加拟南芥对生长素的敏感性来提高对磷饥饿的耐受性^[56]。

PHT1 家族的磷酸转运蛋白被认为可能是植物唯一吸收磷的流入转运蛋白, 其成员的表达在植物获取磷营养的过程中至关重要^[76]。目前, 在拟南芥和水稻中分别发现 9 和 13 个 *PHT1* 基因^[52]。在拟南芥中, *AtPHT1;1* 和 *AtPHT1;4* 是负责在高低磷条件下吸收磷的两个主要成员^[77]; 在水稻中, *OsPHT1;1*、*OsPHT1;2*、*OsPHT1;4*、*OsPHT1;8* 等 4 个 *PHT1* 基因被证明在磷充足的条件下会参与植物对磷的吸收与积累^[78]。目前已有不少 *WRKY* 转录因子被证实会参与调控 *PHT1* 基因的表达, 说明 *PHT* 家族成员作为 *WRKY* 转录因子影响植物磷养分的吸收与利用, 是作用的下游靶基因。但还有很多细节和机理仍不清楚。

2.3 WRKY 调控钾营养

钾 (K) 以阳离子的状态累积在植物细胞中, 不是任何有机化合物的组成成分。但是钾能够通过促进光合作用、叶绿素和蛋白质的合成等多种方式参与植物的生长过程。钾还是多种重要酶的活化剂, 与酶促反应关系密切, 参与对植物细胞渗透压的调节并能够提高植物对外界恶劣环境的抵御能力。

低钾处理 1 h 会使 *AtWRKY31* 的表达量显著下降^[34]。在低钾处理 12 h 后, *AtWRKY61* 基因的表达量显著上升, *AtWRKY61* 既可以与 *AtWRKY9*、*AtWRKY72* 互作, 又可自我聚合形成同源二聚体^[57]。在低钾处理 36 h 后, *GmWRKY6* 和 *GmWRKY75* 的表达量会达到顶峰^[36]。*GmWRKY7* 和 *GmWRKY8* 在叶和根部均受低钾胁迫上调表达。低钾条件下, *GmWRKY15* 在新叶和根部的表达量增加, 在老叶表达量减少^[37], 而 *GmWRKY50* 的表达量会增加, 推测它通过调节下游靶基因的方式参与调控大豆对钾的吸收与转运^[58]。

2.4 WRKY 在植物其他养分吸收利用过程中的调控作用

硫 (S) 对植物生长发育非常重要, 影响含硫蛋白质的合成和谷物品质, 能够促进植物对其他营养元

素的吸收并提高作物的产量与品质。在低硫胁迫下, *GmWRKY7*、*GmWRKY8* 在叶中的表达上调, 而在根被抑制, *GmWRKY15* 在叶部的表达量增加^[37], 推测这 3 个 WRKY 转录因子可能参与响应大豆生长过程中的硫养分匮乏。

硼是植物细胞壁的一种组成成分, 可以增强植物光合作用并促进叶绿素的合成。在缺硼条件下, *AtWRKY6* 可能同时通过调节拟南芥根尖附近的基因表达, 并诱导 *NIP5;1* (*nodulin 26-like intrinsic protein 5;1*) 的转录来提高拟南芥对低硼胁迫的耐受性^[59]。

铁是植物有氧呼吸酶的重要组成物质并有利于叶绿素的合成。*AtWRKY4* 通过参与拟南芥根冠的铁运转和调控 *NAS2* (*Nicotianamine Synthase2*)、*VITL1* (*Vacuolar Iron Transporter1-like1*) 等铁转运相关基因的转录来响应低铁胁迫^[60]。*OsWRKY80* 在高铁胁迫时表达下调, 说明其在水稻响应高铁胁迫时发挥调控作用^[61]。

2.5 WRKY 对植物应对镉毒胁迫的调控作用

镉 (Cd) 不是植物生长所必需的金属元素, 其在植物体内过量积累时会对植物产生毒害, 如抑制光合作用、呼吸和蒸腾作用, 降低植物体内的酶活性, 阻碍根系的发育, 抑制植物对其他必需养分的吸收, 导致植物体内代谢紊乱等^[79]。到目前为止, 已发现多个 WRKY 转录因子参与植物响应重金属镉胁迫的过程。

在拟南芥中, *AtWRKY12* 负调控植物对镉胁迫的耐受性, 其表达会受到镉胁迫的抑制, *WRKY12* 蛋白会抑制 PCs 合成相关基因的表达, 它通过依赖 GSH 的 PC 合成途径降低拟南芥对镉的耐受性^[62]。*AtWRKY13* 通过在镉反应信号通路中的 *AtPDR8* 上游起作用正向调节拟南芥对镉的耐受性^[63]。*AtWRKY33* 通过直接激活 *ATL31* 的转录来响应镉毒, 正向调控拟南芥对镉毒胁迫的耐受性^[64]。*AtWRKY18*、*AtWRKY40* 和 *AtWRKY60* 通过抑制编码硫化氢 (H_2S) 合成酶基因的转录来增强拟南芥对镉的耐受性^[65]。*AtWRKY47* 通过调控 GSH 合成相关酶基因转录而促进 GSH 合成, 减少对外界镉的吸收和区隔化, 提高拟南芥对镉毒的耐受能力^[66]。

在大豆中, *GmWRKY142* 受镉诱导快速差异表达, 正调控拟南芥对镉的耐受性, 它是通过与启动子区域中的 W-box 元件结合来激活镉耐受相关基因 *ATCDT1*、*GmCDT1-1* 和 *GmCDT1-2* 的转录起作用^[67]。

水稻 *WRKY15* 受镉快速诱导表达, 通过一氧化

氮 (NO) 和脱落酸 (ABA) 介导的信号途径抑制镉从植物根部向上运输, 调节水稻对镉胁迫的响应^[68]。在杨树中, 过表达 *PyWRKY75* 通过增加杨树的叶绿素含量, 保护超氧化物歧化酶 (SOD)、抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 等抗氧化酶的活性, 促进还原型谷胱甘肽 (GSH) 和植物螯合物 (PCs) 的合成以钝化镉, 增强杨树对镉的耐受性^[69]。

2.6 WRKY 对植物应对铝毒胁迫的调控作用

铝 (Al) 是自然界含量最多的金属元素, 土壤中的铝大多以铝硅酸盐的形式存在, 在酸性土壤 (pH<5.0) 中, 铝会被解离成 Al^{3+} 释放到土壤中, 对植物的生长发育造成直接伤害。铝毒快速抑制植物根尖细胞伸长和分裂。已有研究证明, WRKY 转录因子参与帮助植物耐受铝毒, 这一发现对南方酸性土壤上生长的作物有重大意义。

在铝毒胁迫下, *AtWRKY46* 通过与 *ALMT1* (*aluminum-activated malate transporter 1*) 基因启动子中的 W-box 结合, 抑制其转录, 促使拟南芥分泌更多的苹果酸, 增强其对铝的抗性^[70]。*AtWRKY47* 可能通过介导 *ELP* (*Extensin-Like Protein*)、*XTH17* (*xyloglucan endo transglucosylase hydrolases17*) 等细胞壁修饰基因的表达在拟南芥耐铝方面起积极作用^[71] (表 1)。*GmWRKY21* 上调 *AtALMT1*、*AtALS3*、*AtMATE*、*AtSTOP1* 等胁迫响应基因的表达, 提高转基因拟南芥对铝毒的耐受性。*GmWRKY21* 促进 *GmCOR47*、*GmDREB2A*、*GmMYB84*、*GmKIN1*、*GmGST1*、*GmLEA* 等基因的表达, 增强大豆对铝胁迫的耐受性^[72]。15 个大豆基因启动子含有 W-box 元件, 可能是 *GmWRKY81* 的靶基因, 如低铁诱导的 bHLH 转录因子 (*Glyma.03G130600*)、铁还原酶 (*Glyma.07G067700*)、NRAMP 转运子 (*Glyma.06G115800*)、NAS (*Glyma.08G175400*)、POD (*Glyma.18G211000*)、有机酸转运子 (*Glyma.19G173800*) 等基因, *GmWRKY81* 可能通过激活抗氧化基因的表达, 清除 ROS (reactive oxygen species), 增加有机酸的分泌, 提高大豆的耐铝性^[73]。*OsFRDL4* 编码水稻柠檬酸转运子, 而转录因子 ART1 (resistance transcription factor 1) 直接调控 *OsFRDL4* 的转录, 有趣的是, *OsWRKY22* 是一个转录激活因子, 它通过结合在 *OsFRDL4* 启动子的 W-box 元件促进 *OsFRDL4* 的转录, 促进水稻根系柠檬酸的分泌而增强耐铝毒能力。与此一致的是, T-DNA 插入突变体 *oswrky22* 对铝胁迫更敏感, *art1 oswrky22* 双突变体中 *OsFRDL4* 的表达水平以及柠

檬酸分泌明显比单突变体少, 因此 OsWRKY22 与 ART1 (resistance transcription factor 1) 协同激活受铝诱导的柠檬酸盐转运基因 *OsFRDL4* 的表达, 维持水稻耐铝毒能力^[74]。

3 总结与展望

作为植物特有的一大类重要转录因子, WRKY 基因在植物的整个生命周期中起关键作用。在过去的几十年中, 随着基因工程、生物信息学、基因编辑等技术的不断发展, 已经有许多科学家通过对不同类植物中的 WRKY 家族成员进行功能验证, 发现并证明了 WRKY 基因在植物生长发育、养分逆境响应等过程中起关键作用。WRKY 家族成员虽然具有相似的结构, 但是它们在作用的下游靶基因、调控的信号通路等方面仍存在差异, 导致其表现出的功能以及作用机制不相同。基于 WRKY 基因在不同植物基因组的数量很多, 存在如此众多 WRKY 基因的生物学意义何在? 揭示不同 WRKY 基因在调控植物营养方面的功能就显得尤为迫切。重要的是, 在养分逆境条件下调控 WRKY 基因转录的转录因子有哪些? 在氮磷钾硫等养分亏缺以及铝毒和镉毒条件下 WRKY 在翻译和翻译后层面是如何被调控的? 在氮磷钾硫等养分亏缺以及铝毒和镉毒条件下 WRKY 基因的转录在表观遗传层面受到哪些调控? 回答这些科学问题将是今后研究的重点和方向。

参考文献:

- [1] Li W X, Pang S Y, Lu Z G, Jin B. Function and mechanism of WRKY transcription factors in abiotic stress responses of plants [J]. *Plants*, 2020, 9(11): 1515–1530.
- [2] Wani S H, Anand S, Singh B, *et al.* WRKY transcription factors and plant defense responses: Latest discoveries and future prospects [J]. *Plant Cell Reports*, 2021, 40(7): 1071–1085.
- [3] 刘淑君, 万红建, 叶青静, 等. 植物MYB转录因子的研究进展[J]. 分子植物育种(网络版), 2011, 9: 1835–1842.
Liu S J, Wan H J, Ye Q J, *et al.* Progress of studies on MYB transcription factor family in plants[J]. *Molecular Plant Breeding* (online), 2011, 9: 1835–1842.
- [4] Riaño-Pachón D M, Ruzicic S, Dreyer I, Mueller-Roeber B. PlnTFDB: An integrative plant transcription factor database[J]. *BMC Bioinformatics*, 2007, 8(1): 42–52.
- [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 beta-amylase from sweet potato[J]. *Molecular and General Genetics*, 1994, 244(6): 563–571.
- [6] Bencke-Malato M, Cabreira C, Wiebke-Strohm B, *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(1): 236–254.
- [7] Ulker B, Somssich I E. WRKY transcription factors: From DNA binding towards biological function[J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2004, 7(5): 491–498.
- [8] Xie Z, Zhang Z L, Zou X L, *et al.* Annotations and functional analyses of the rice WRKY gene superfamily reveal positive and negative regulators of abscisic acid signaling in aleurone cells [J]. *Plant Physiology*, 2005, 137(1): 176–189.
- [9] Marè 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.
- [10] Seki M, Narusaka M, Ishida J, *et al.* Monitoring the expression profiles of 7000 *Arabidopsis* genes under drought, cold and high-salinity stresses using a full-length cDNA microarray[J]. *The Plant Journal*, 2002, 31(3): 279–292.
- [11] Rizhsky L, Liang H, Mittler R. The combined effect of drought stress and heat shock on gene expression in tobacco[J]. *Plant Physiology*, 2002, 130(3): 1143–1151.
- [12] Dong J X, Chen C H, Chen Z X. Expression profiles of the *Arabidopsis* WRKY gene superfamily during plant defense response[J]. *Plant Molecular Biology*, 2003, 51(1): 21–37.
- [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] 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: 9–24.
- [15] Wang H, Xu Q, Kong Y H, *et al.* *Arabidopsis* WRKY45 transcription factor activates PHOSPHATE TRANSPORTER1;1 expression in response to phosphate starvation[J]. *Plant Physiology*, 2014, 164(4): 2020–2029.
- [16] Devaiah B N, Karthikeyan A S, Raghothama K G. WRKY75 transcription factor is a modulator of phosphate acquisition and root development in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2007, 143(4): 1789–1801.
- [17] Besseau S, Li J, Palva E T. WRKY54 and WRKY70 cooperate as negative regulators of leaf senescence in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 63(7): 2667–2679.
- [18] Ichimaru K, Yamaguchi K, Harada K, *et al.* Cooperative regulation of PBI1 and MAPKs controls WRKY45 transcription factor in rice immunity[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 2397–2413.
- [19] 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.
- [20] 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 PR1 genes[J]. *The EMBO Journal*, 1996, 15(20): 5690–5700.
- [21] Eulgem T, Rushton P J, Robatzek S, Somssich I E. The WRKY superfamily of plant transcription factors[J]. *Trends in Plant*

- Science, 2000, 5(5): 199–206.
- [22] Maeo K, Hayashi S, Kojima-Suzuki H, *et al.* Role of conserved residues of the WRKY domain in the DNA-binding of tobacco WRKY family proteins[J]. Bioscience, Biotechnology & Biochemistry, 2001, 65(11): 2428–2436.
- [23] Ciolkowski I, Wanke D, Birkenbihl R P, Somssich I E. Studies on DNA-binding selectivity of WRKY transcription factors lend structural clues into WRKY-domain function[J]. Plant Molecular Biology, 2008, 68(1/2): 81–92.
- [24] Brand L H, Fischer N M, Harter K, *et al.* Elucidating the evolutionary conserved DNA-binding specificities of WRKY transcription factors by molecular dynamics and *in vitro* binding assays[J]. Nucleic Acids Research, 2013, 41(21): 9764–9778.
- [25] Rushton P J, Somssich I E, Ringler P, Shen Q J. WRKY transcription factors[J]. Trends in Plant Science, 2010, 15(5): 247–258.
- [26] Chen X J, Li C, Wang H, Guo Z J. WRKY transcription factors: evolution, binding, and action[J]. Phytopathology Research, 2019, 1(1): 13–28.
- [27] Bakshi M, Oelmüller R. WRKY transcription factors: Jack of many trades in plants[J]. Plant Signaling & Behavior, 2014, 9(2): e27700.
- [28] Yu Y C, Wang N, Hu R B, Xiang F N. Genome-wide identification of soybean WRKY transcription factors in response to salt stress [J]. Springerplus, 2016, 5(1): 920.
- [29] 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, 8: 781–799.
- [30] 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.
- [31] 文亦芾, 单贵莲, 姜飞, 等. 柱花草WRKY转录因子在低磷胁迫下的克隆与分析[J]. 西北植物学报, 2019, 39(2): 226–233.
- Wen Y F, Shan G L, Jiang F, *et al.* Cloning and analysis of WRKY transcription factors of *Stylosanthes guianensis* under low phosphorus stress[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2019, 39(2): 226–233.
- [32] Gutiérrez R A, Stokes T L, Thum K, *et al.* Systems approach identifies an organic nitrogen-responsive gene network that is regulated by the master clock control gene *CCA1*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105(12): 4939–4944.
- [33] Krapp A, Berthomé R, Orsel M, *et al.* *Arabidopsis* roots and shoots show distinct temporal adaptation patterns toward nitrogen starvation [J]. Plant Physiology, 2011, 157(3): 1255–1282.
- [34] 王艺桥, 赵新杰, 牛芳芳, 等. 拟南芥中WRKY31转录因子的转录活性与互作蛋白分析[J]. 生物技术通报, 2018, 34(5): 101–109.
- Wang Y Q, Zhao X J, Niu F F, *et al.* Analysis of transcriptional activity and interaction proteins of WRKY31 transcription factor in *Arabidopsis thaliana*[J]. Biotechnology Bulletin, 2018, 34(5): 101–109.
- [35] 李琪, 李烨, 牛芳芳, 等. 拟南芥转录因子基因WRKY72的特性分析及其抗逆功能鉴定[J]. 农业生物技术学报, 2019, 27(2): 191–203.
- Li Q, Li Y, Niu F F, *et al.* Characterization and stress-resistance functional identification of transcription factor gene *WRKY72* in *Arabidopsis thaliana*[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2019, 27(2): 191–203.
- [36] 徐影. 大豆耐低磷相关转录因子和*GmWRKY75*和*GmWRKY6*的克隆及功能分析[D]. 江苏南京: 南京农业大学硕士学位论文, 2014.
- Xu Y. Cloning and functional analysis of two transcription factors *GmWRKY75* and *GmWRKY6* related to soybean tolerance to low-phosphorus stress[D]. Nanjing, Jiangsu: MS Thesis of Nanjing Agricultural University, 2014.
- [37] 彭俊楚. 大豆*GmWRKYs*基因的克隆和功能研究[D]. 广东广州: 华南农业大学硕士学位论文, 2016.
- Peng J C. Isolation and function analysis of soybean *GmWRKYs*[D]. Guangzhou, Guangdong: MS Thesis of South China Agricultural University, 2016.
- [38] 张红梅, 刘晓庆, 陈华涛, 等. 大豆转录因子GmWRKY58亚细胞定位及在非生物胁迫下的表达分析[J]. 华北农学报, 2018, 33(2): 49–57.
- Zhang H M, Liu X Q, Chen H T, *et al.* Subcellular localization and expression analysis of a soybean transcription factor GmWRKY58 in response to abiotic stresses[J]. Acta Agriculturae Boreali Sinica, 2018, 33(2): 49–57.
- [39] 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]. The Plant Cell, 2009, 21(11): 3554–3566.
- [40] Li L Q, Huang L P, Pan G, *et al.* Identifying the genes regulated by AtWRKY6 using comparative transcript and proteomic analysis under phosphorus deficiency[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2017, 18(5): 1046–1066.
- [41] Su T, Xu Q, Zhang F C, *et al.* WRKY42 modulates phosphate homeostasis through regulating phosphate translocation and acquisition in *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology, 2015, 167(4): 1579–1591.
- [42] Ye Q, Wang H, Su T, *et al.* The ubiquitin E3 ligase PRU1 regulates WRKY6 degradation to modulate phosphate homeostasis in response to low-Pi stress in *Arabidopsis*[J]. The Plant Cell, 2018, 30(5): 1062–1076.
- [43] 张飞萃. 拟南芥WRKY28和WRKY42调控磷吸收和转运的机制研究[D]. 北京: 中国农业大学博士学位论文, 2015.
- Zhang F C. Regulatory mechanism of phosphate translocation and acquisition by AtWRKY28 and AtWRKY42 in *Arabidopsis* plants [D]. Beijing: PhD Dissertation of China Agricultural University, 2015.
- [44] Shen N, Hou S F, Tu G Q, *et al.* Transcription factor WRKY33 mediates the phosphate deficiency-induced remodeling of root architecture by modulating iron homeostasis in *Arabidopsis* roots[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(17): 9275–9291.
- [45] Firat K, Ertugrul F. Biological network analyses of WRKY transcription factor family in soybean (*Glycine max*) under low phosphorus treatment[J]. Journal of Crop Science and Biotechnology, 2020, 23(2): 127–136.
- [46] Wang R Y, Liu X Q, Zhu H Q, *et al.* Transcription factors GmERF1

- and GmWRKY6 synergistically regulate low phosphorus tolerance in soybean[J]. *Plant Physiology*, 2023, 192(2): 1099–1114.
- [47] 张璟曜. 大豆磷饥饿诱导相关基因*GmSPX*和*GmWRKY75*的功能研究[D]. 江苏南京: 南京农业大学博士学位论文, 2016.
- Zhang J Y. Functional study on phosphate starvation-induced genes *GmSPX* and *GmWRKY75* in soybean[D]. Nanjing, Jiangsu: PhD Dissertation of Nanjing Agricultural University, 2016.
- [48] Li C, Liu X Y, Ruan H, *et al.* *GmWRKY45* enhances tolerance to phosphate starvation and salt stress, and changes fertility in transgenic *Arabidopsis*[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10: 1714–1729.
- [49] Liu X Q, Yang Y M, Wang R Y, *et al.* *GmWRKY46*, a WRKY transcription factor, negatively regulates phosphorus tolerance primarily through modifying root morphology in soybean[J]. *Plant Science*, 2022, 315: 111148.
- [50] Wang S C, Xu T T, Chen M, *et al.* The transcription factor OsWRKY10 inhibits phosphate uptake via suppressing *OsPHT1;2* expression under phosphate-replete conditions in rice[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2023, 74(3): 1074–1089.
- [51] Wang P T, Xu X, Tang Z, *et al.* OsWRKY28 regulates phosphate and arsenate accumulation, root system architecture and fertility in rice[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 1330–1343.
- [52] Zhang J, Gu M, Liang R S H, *et al.* OsWRKY21 and OsWRKY108 function redundantly to promote phosphate accumulation through maintaining the constitutive expression of *OsPHT1;1* under phosphate-replete conditions[J]. *New Phytologist*, 2020, 229(3): 1598–1614.
- [53] 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.
- [54] Chen N N, Tong S F, Yang J, *et al.* PtoWRKY40 interacts with PtoPHR1-LIKE3 while regulating the phosphate starvation response in poplar[J]. *Plant Physiology*, 2022, 190(4): 2688–2705.
- [55] 杨晓清. 利用杨树WRKY65、WRKY6、PHT1;9三个基因提高杨树对低磷胁迫耐受性[D]. 湖北武汉: 华中农业大学硕士学位论文, 2022.
- Yang X Q. Poplar *WRKY65*, *WRKY6*, *PHT1;9* gens enhance the tolerance to low phosphorus stress[D]. Wuhan, Hubei: MS Thesis of Huazhong Agricultural University, 2022.
- [56] Xu L, Jin L, Long L, *et al.* Overexpression of *GbWRKY1* positively regulates the Pi starvation response by alteration of auxin sensitivity in *Arabidopsis*[J]. *Plant Cell Reports*, 2012, 31(12): 2177–2188.
- [57] 范晓江, 郭小华, 牛芳芳, 等. 拟南芥WRKY61转录因子的转录活性与互作蛋白分析[J]. 西北植物学报, 2018, 38(1): 1–8.
- Fan X J, Guo X H, Niu F F, *et al.* Exploring the transcriptional activity and interacting proteins of WRKY61 transcriptional factor in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2018, 38(1): 1–8.
- [58] 朱晓玲. 大豆耐低钾胁迫相关基因的筛选与功能验证[D]. 北京: 中国农业科学院硕士学位论文, 2013.
- Zhu X L. Screening and functional verification of related genes on potassium stress in soybean[D]. Beijing: MS Thesis of the Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2013.
- [59] Ichiro K, Yoko I, Masami Y H, Toru F. WRKY6 is involved in the response to boron deficiency in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Physiologia Plantarum*, 2010, 139(1): 80–92.
- [60] Yan J Y, Li C X, Sun L, *et al.* A WRKY transcription factor regulates Fe translocation under Fe deficiency[J]. *Plant Physiology*, 2016, 171(3): 2017–2027.
- [61] Ricachenevsky F K, Sperotto R A, Menguer P K, Fett J P. Identification of Fe-excess-induced genes in rice shoots reveals a WRKY transcription factor responsive to Fe, drought and senescence [J]. *Molecular Biology Reports*, 2010, 37(8): 3735–3745.
- [62] Han Y Y, Fan T T, Zhu X Y, *et al.* WRKY12 represses *GSH1* expression to negatively regulate cadmium tolerance in *Arabidopsis*[J]. *Plant Molecular Biology*, 2019, 99(1/2): 149–159.
- [63] Sheng Y B, Yan X X, Huang Y, *et al.* The WRKY transcription factor, WRKY13, activates *PDR8* expression to positively regulate cadmium tolerance in *Arabidopsis*[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2019, 42(3): 891–903.
- [64] Zhang C, Tong C C, Cao L, *et al.* Regulatory module WRKY33-ATL31-IRT1 mediates cadmium tolerance in *Arabidopsis*[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2023, 46(5): 1653–1670.
- [65] Liu Z Q, Fang H H, Pei Y X, *et al.* WRKY transcription factors down-regulate the expression of H₂S-generating genes, LCD and DES in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Science Bulletin*, 2015, 60(11): 995–1001.
- [66] 孟云. 拟南芥WRKY47基因在镉胁迫应答中的作用机理研究[D]. 安徽合肥: 合肥工业大学硕士学位论文, 2019.
- Meng Y. Mechanism by which *WRKY47* gene regulating the cadmium stress response in *Arabidopsis thaliana*[D]. Hefei, Anhui: MS Thesis of Hefei University of Technology, 2019.
- [67] Cai Z D, Xian P Q, Wang H, *et al.* Transcription factor GmWRKY142 confers cadmium resistance by up-regulating the cadmium tolerance l-like genes[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 724–741.
- [68] 彭喜旭, 白宁宁, 王海华. 响应镉胁迫的水稻WRKY15转录因子基因的分离与表达特征[J]. 中国水稻科学, 2018, 32(2): 103–110.
- Peng X X, Bai N N, Wang H H. Isolation and expression profiles of cadmium stress-responsive rice WRKY15 transcription factor gene[J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2018, 32(2): 103–110.
- [69] Wu X L, Chen Q, Chen L L, *et al.* A WRKY transcription factor, *PyWRKY75*, enhanced cadmium accumulation and tolerance in poplar[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 239: 113630.
- [70] Ding Z J, Yan J Y, Xu X Y, *et al.* WRKY46 functions as a transcriptional repressor of *ALMT1*, regulating aluminum-induced malate secretion in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Journal*, 2013, 76(5): 825–835.
- [71] Li C X, Yan J Y, Ren J Y, *et al.* A WRKY transcription factor confers aluminum tolerance via regulation of cell wall modifying genes[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2020, 62(8): 1176–1192.
- [72] Han Z Z, Wang J Y, Wang X X, *et al.* *GmWRKY21*, a soybean WRKY transcription factor gene, enhances the tolerance to aluminum stress in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 833326.
- [73] Shu W J, Zhou Q H, Xian P Q, *et al.* *GmWRKY81* encoding a WRKY

- transcription factor enhances aluminum tolerance in soybean[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(12): 6518.
- [74] Li G Z, Wang Z Q, Yokosho K G, *et al.* Transcription factor WRKY22 promotes aluminum tolerance via activation of *OsFRDL4* expression and enhancement of citrate secretion in rice (*Oryza sativa*)[J]. *New Phytologist*, 2018, 219(1): 149–162.
- [75] Kochian L V. Plant nutrition: Rooting for more phosphorus[J]. *Nature*, 2012, 488: 466–467.
- [76] Amal A, Pascale D, Jean-François A, *et al.* Reducing the genetic redundancy of Arabidopsis PHOSPHATE TRANSPORTER1 transporters to study phosphate uptake and signaling[J]. *Plant Physiology*, 2015, 167(4): 1511–1526.
- [77] Muchhal U S, Pardo J M, Raghothama K G. Phosphate transporters from the higher plant *Arabidopsis thaliana*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1996, 93(19): 10519–10523.
- [78] Secco D, Jabnourne M, Walker H, *et al.* Spatio-temporal transcript profiling of rice roots and shoots in response to phosphate starvation and recovery[J]. *The Plant Cell*, 2013, 25(11): 4285–4304.
- [79] Seregin V I, Ivanov B V. Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants[J]. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2001, 48(4): 523–544.