生物技术通报
· 研究报告 · BIOTECHNOLOGY BULLETIN 2026, 42(10):134-141

# 转录因子GhWRKY21调控棉花耐高温机制研究

王佳玉[1*] 王琛[2]
（1.酒泉职业技术大学,酒泉 735000; 2.山东农业大学,泰安 271000）

**摘 要：** 【目的】探究棉花WRKY转录因子GhWRKY21在耐高温胁迫中的分子机制，揭示其在棉花抗逆中发挥的功能。【方法】综合运用生物信息学、分子生物学和生物化学的方法，通过病毒介导的基因沉默技术在棉花中构建*GhWRKY21*沉默的植株材料，并对其开展初步功能验证；利用农杆菌介导的叶盘转化法，在烟草中获得*GhWRKY21*过表达转基因株系，通过种子萌发实验、幼苗表型分析、叶片保卫细胞显微观察及高温胁迫下活性氧积累检测等试验，从表型、细胞和生理水平系统评估GhWRKY21在植物热应激响应中的功能。【结果】GhWRKY21属于棉花WRKY转录因子家族中的IId亚族，其表达可受温度、$H_2O_2$及信号分子的诱导。功能研究表明，在棉花中沉默该基因可显著增强植株的耐热性；相反，在烟草中过表达*GhWRKY21*则导致转基因植株对高温更为敏感，具体表现为种子萌发率降低、根伸长减缓以及叶片保卫细胞气孔关闭能力减弱等现象。进一步的生理与分子证据表明，GhWRKY21可能通过调控活性氧（ROS）的积累，参与植物对高温胁迫的应答过程。【结论】GhWRKY21在植物高温胁迫响应中起负调控作用，其通过调节ROS稳态影响植物抗逆性。

**关键词：** 棉花；WRKY转录因子；GhWRKY21；烟草；高温；ROS；气孔
DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2025-1061

# Mechanism of GhWRKY21 Transcription Factor in Regulating Cotton High Temperature Resistance

WANG Jia-yu[1*] WANG Chen[2]
（1. *Jiuquan Vocational Technical University, Jiuquan* 735000; 2. *Shandong Agricultural University, Tai'an* 271000）

**Abstract:** 【Objective】 To investigate the molecular mechanism of the cotton WRKY transcription factor GhWRKY21 under high-temperature stress and elucidate its functional role in cotton stress resistance. 【Method】 *GhWRKY21*-silenced cotton plants were constructed using virus-induced gene silencing (VIGS) and preliminarily functionally characterized. Concurrently, *GhWRKY21*-overexpressing transgenic tobacco lines were generated via *Agrobacterium*-mediated leaf disc transformation. Functional assessment of GhWRKY21 in heat-stress response was then conducted through a series of experiments spanning seed germination assays, seedling phenotypic analysis, microscopic examination of leaf guard cells, and measurement of reactive oxygen species (ROS) accumulation under high-temperature stress, thereby evaluating its role at phenotypic, cellular, and physiological levels. 【Result】 GhWRKY21 is a member of the IId subfamily of WRKY transcription factors in cotton. Its expression can be induced by temperature, $H_2O_2$, and signaling molecules. Functional analysis revealed that silencing *GhWRKY21* in cotton significantly enhanced thermotolerance. Conversely, its overexpression in tobacco increased sensitivity to heat stress, as evidenced by reduced seed germination rates, suppressed root elongation, and impaired stomatal closure in leaf guard cells. Further physiological and molecular evidence suggests that *GhWRKY21* may participate in the plant response to high-temperature stress by modulating the accumulation of ROS. 【Conclusion】 GhWRKY21 functions as a negative regulator in plant high-temperature stress responses by modulating ROS homeostasis, thereby influencing plant stress resistance.

**Keywords:** *Gossypium hirsutum*; WRKY transcription factor; GhWRKY21; tobacco; heat; ROS; stomata

收稿日期：2025-10-05
基金项目：酒泉市科技计划项目（2024CB1013）
*通信作者：王佳玉 jiayuw123@163.com

棉花（*Gossypium* spp）作为主要的棉纺织工业原料，是我国重要的经济作物和战略物资。我国棉区主要分布在黄河流域、长江流域和西北内陆，随着国家农业产业结构变更和资源分配调整，西北内陆棉区已然成为中国棉花的主要产区。就西北棉区而言，干旱和高温是严重影响棉花生产和品质的主要因素。转录因子（NAC、MYB、bHLH、WRKY等）作为信号传导调控网络中重要的组成基因，在植物响应生物和非生物胁迫过程中发挥功能[1]。WRKY转录因子是高等植物特有的转录因子，广泛参与调控植物对多种环境胁迫的应激响应。

WRKY转录因子可以通过与互作基因启动子中的W-box（C/TTGACT/C）元件特异性结合，调控下游基因的表达；也可以作为信号分子参与植物激素信号传导过程，从而调节植物应对各种环境胁迫时的反应[2]。有研究表明，在拟南芥中AtWRKY57可以直接与*NCED3*和*RD29A*启动子内的W-box元件结合，过表达*AtWRKY57*显著提高了植物的耐旱性[3]。在模式植物烟草中，过表达*GhWRKY17*显著降低了转基因植株的抗旱性和耐盐性[4]。过表达*GhWRKY27a*可以提高转基因植株对立枯丝核菌侵染的敏感性，同时降低了植株的抗旱性[5]。虽然已有大量研究证实了WRKY蛋白的功能，但由于功能的复杂性，WRKY转录因子对应激响应的调控机制仍有待进一步研究。

棉花生长过程中环境温度超过35 ℃，会出现不同程度的雄性不育[6]、蕾铃脱落[7]，引起减产[8-10]。另外，长时间的高温胁迫还会导致棉花纤维强度下降，纤维整齐度降低[11]。因此，解析棉花耐高温胁迫机理，挖掘其相关响应基因，对于开发棉花优质种质、培育优良品种，保障棉花生产可持续发展具有重要意义。

本研究从陆地棉（*Gossypium hirsutum* L.）中分离出一个IId族WRKY转录因子家族成员GhWRKY21。利用生物信息学、分子生物学、生物化学等技术，明确GhWRKY21在调控棉花非生物胁迫抗性方面发挥的作用，为培育棉花新品种提供优良种质资源。

## 1　材料与方法

### 1.1　材料

本研究以陆地棉和本氏烟草（*Nicotiana benthamiana*）为主要实验材料。棉花种子经湿纱布包裹后，置于培养箱中（28 ℃，1 500 lx光照强度，16 h光照/8 h黑暗循环，湿度50%）进行避光催芽。待子叶完全展开后，转移至水培系统或混合基质（基质：珍珠岩：蛭石：土壤=1∶1∶1∶1）中培养。烟草种子则直接播种于相同混合基质中，并在培养箱（24 ℃，100 μmol/($m^2$·s）光照强度，16 h光照/8 h黑暗循环，湿度50%）中生长，期间定期浇灌自来水。

### 1.2　方法

1.2.1　GhWRKY21的生物信息学分析和基因克隆　根据NCBI和CottonGen网站公布的棉花*GhWRKY21*基因已知序列（GenBank登录号：KT983420），设计特异性引物WRKY21-5与WRKY21-3（附表），提取棉花RNA反转录为cDNA，以cDNA为模板进行PCR扩增，克隆并分离GhWRKY21的开放阅读框（ORF）。氨基酸序列数据来源于NCBI数据库（访问地址：https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi）。利用MEGA 5.0软件，采用邻接法（Neighbor-Joining）进行系统发育分析。

1.2.2　农杆菌介导的基因沉默　根据病毒诱导基因沉默（VIGS）[12]的实验方法，将*GhWRKY21*的特异性序列插入pCLCrV-A载体中（相关引物序列见附表），分别将重组质粒和pCLCrV-A空载体转化进农杆菌EHA105。将含有pCLCrV-A重组质粒（pCLCrV-A-GhWRKY21）和含有pCLCrV-B质粒的等量农杆菌悬液混合接种至子叶舒展的7日龄棉花中，含有pCLCrV-A和pCLCrV-B的混合农杆菌悬浮液作为对照接种，接种后黑暗放置6 h后常规培养，3周后对基因沉默棉花株系进行功能分析。每个实验独立重复至少3次，每次接种实验组和对照组各15株。

1.2.3　农杆菌介导的叶盘转化法　将*GhWRKY21* cDNA全长序列插入到pBI121植物表达载体中与花椰菜花叶病毒（CaMV）35S启动子连接，然后将重组质粒导入根癌农杆菌（菌株LBA4404），采用叶盘法[12]进行转化，筛选卡那霉素（100 mg/L）抗性，获得转基因烟草。采用转基因$T_2$株系进行实验。

1.2.4　非生物胁迫处理　为初步探究GhWRKY21可能的生物学功能，选择7日龄（从播种开始计算）水培棉花幼苗分别进行不同温度（4、37、42 ℃）

处理，在1、2、4、6、8 h收集样本；将幼苗根部浸泡于甘露醇（100 μmol/L）溶液模拟干旱处理，或者涂抹$H_2O_2$（10 mmol/L）、ABA（100 μmol/L）、MeJA（100 μmol/L）、SA（2 mmol/L）或ET（5 mmol/L）于棉花子叶进行植物激素信号分子的诱导处理，相隔固定时间收集样本。收集处理后的棉花子叶，液氮冷冻保存。

1.2.5 高温胁迫处理 以过表达*GhWRKY21*的烟草（OE）和空载体对照烟草（Vec）种子进行发芽率和根生长试验。选取饱满完整的种子，用75%乙醇消毒2 min，无菌吐温水冲洗2次，再浸入2.6%次氯酸钠溶液消毒8 min，再次用无菌吐温水清洗3次，最后用滤纸吸干种子表面水分，逐粒散布在MS固体培养基上（全程在无菌情况下操作，每次每株系铺种子200颗）。将铺满种子的培养皿置于42 ℃培养箱黑暗培养6 h后正常光照培养，每天测量发芽率。此外，正常萌发的种子当胚根发育约3 d后，将芽移植到另外的MS固体培养基中，并在42 ℃培养箱中垂直放置，日常观察6 d后测量主根长度。每个实验独立重复至少3次。

幼苗高温响应试验采用5周龄棉花（第3片真叶完全展开）和8周龄烟草（竖膀期）。选择长势一致的植株，对照组常规培养，实验组42 ℃处理24 h后观察表型，收集子叶进行RNA提取或化学染色等后续分析。每次实验至少设置5组，每个实验独立重复至少3次。

1.2.6 二氨基苯丙胺(DAB)、氮蓝四唑(NBT)组织化学染色法 将经过高温胁迫处理后的植物叶片分别浸泡于DAB染色液（1 mg/mL，pH 3.8）和NBT染色液（0.1 mg/mL）中，室温黑暗孵育15 h以上，前者转移至95%乙醇脱色液中，沸水浴10 min后更换脱色液浸泡2-3 d观察拍照；后者转移至乙醇∶乳酸∶甘油=1∶1∶1的固定液中煮沸10 min，室温过夜后观察拍照。

1.2.7 RNA提取和RT-qPCR定量分析 开展*GhWRKY21*的表达模式分析、过表达及沉默植株鉴定等实验时，使用植物RNA快速提取试剂盒和Trizol试剂分别从棉花和烟草中提取总RNA，使用Vazyme反转录试剂盒合成cDNA单链，逆转录所得产物可直接用于实时荧光定量PCR（RT-qPCR）反应。

1.2.8 氧化胁迫实验 使用打孔器分别从8周龄对照植株和转基因株系相同部位的叶片上获得面积相等的圆片，随机放入不同浓度（0、400或600 μmol/L）甲基紫精（MV）溶液中，于培养箱孵育2 d，用95%乙醇提取叶绿素，使用分光光度法进行分析。

1.2.9 叶片保卫细胞气孔开度测定 高温处理烟草叶片后，取对照组和处理组植株相同部位的真叶，在水中用镊子撕取下表皮，制成临时玻片标本，用显微镜（AXIO）观察气孔状态，并测量开度。每片叶子观察3-5个视野，单次测量气孔至少50个，每个实验独立重复至少3次。

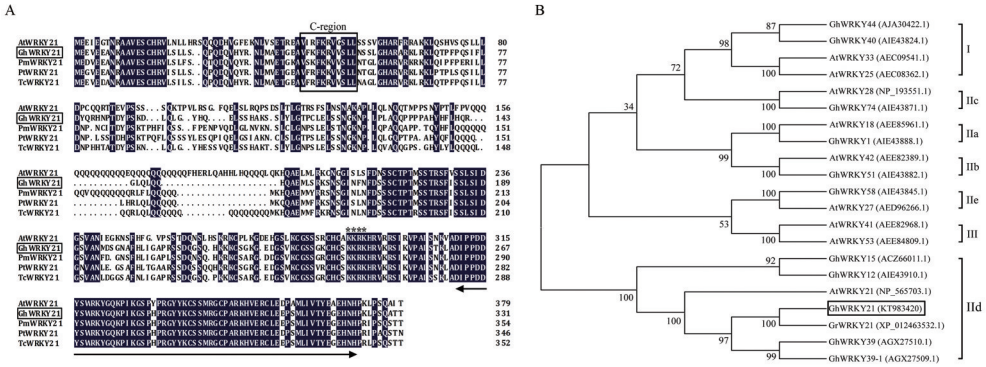
## 2 结果

### 2.1 *GhWRKY21*的克隆及生物信息学分析

本研究从棉花中克隆获得*GhWRKY21*基因（GenBank登录号：KT983420）。该基因全长1 494 bp，包含996 bp的开放阅读框（ORF），其5′非翻译区（UTR）和3′ UTR长度分别为173 bp和324 bp。通过多序列比对分析发现，GhWRKY21与同源蛋白的序列相似性介于57.59%-81.30%之间（图1-A）。进一步的生物信息学分析表明，GhWRKY21蛋白包含1个典型的WRKY结构域和1个C端锌指结构，符合IId亚家族WRKY转录因子的特征（图1-A）。系统进化分析结果进一步支持GhWRKY21属于IId亚家族（图1-B）。此外，在GhWRKY21蛋白序列的第289-292位氨基酸处鉴定到一个核定位信号（NLS）KKRK（图1-A）。

### 2.2 *GhWRKY21*的表达模式分析

为初步筛选*GhWRKY21*可能参与响应环境胁迫，本研究将7日龄棉花幼苗分别进行不同条件的胁迫处理。如图2所示，4 ℃的低温可以诱导*GhWRKY21*的表达，在4 h时表达量达到峰值；37 ℃以上的高温则明显抑制*GhWRKY21*的表达。本研究还检测了其对多种信号分子的响应，*GhWRKY21*的表达在脱落酸（ABA）、茉莉酸甲酯（MeJA）、水杨酸（SA）、乙烯（ET）和过氧化氢（$H_2O_2$）处理下均出现不同程度的上调，并在达到峰值后迅速下降。此外，$H_2O_2$处理棉花后，*GhWRKY21*的表达量也呈现出先升高后降低的相似趋势，并且在0.5 h时达到最高值。这些结果表明，*GhWRKY21*可能通过介导多条

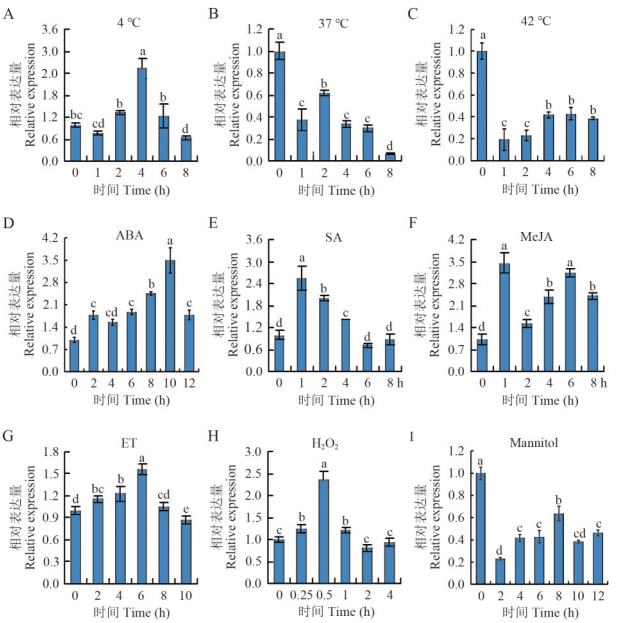



A：陆地棉GhWRKY21与拟南芥AtWRKY21、松树PmWRKY21、杨树PtWRKY21、红豆杉TcWRKY21的氨基酸序列同源性比对；黑色部分表示相同的氨基酸，WRKY结构域（60个氨基酸）用双向箭头标记，方框标注高度保守的WRKYGQK基序及C端保守序列；假定的核定位信号KKRK用****标记；B：显示WRKY家族的7个分组，用黑色矩形框标注GhWRKY21的位置，该进化树使用MEGA5.0构建

A: Amino acid sequence homology comparison of GhWRKY21 from *Gossypium hirsutum*, AtWRKY21 from *Arabidopsis thaliana*, PmWRKY21 from pine, PtWRKY21 from poplar, and TcWRKY21 from *Taxus chinensis*. The black regions indicate the same amino acids, where the 60-amino-acid WRKY domain is marked by a double-headed arrow. The boxed sequences are the highly conserved amino-acid sequence WRKYGQK and the conserved C-terminal motif. The putative nuclear localization signal, KKRK, is marked by asterisks (****). B: The phylogenetic tree shows the seven subgroups of the WRKY family. The position of GhWRKY21 is marked with a black rectangular box. The tree was constructed using MEGA 5.0

**图1　不同物种WRKY21的氨基酸序列比对（A）和进化树分析（B）**

**Fig. 1　Amino acid sequence alignment (A) and phylogenetic analysis (B) of WRKY21 from different species**




数据为3次独立实验的平均值±标准误差（SE）；经Tukey's HSD检验，误差线上不同字母表示组间差异具有统计学意义（$P$<0.05）。下同

Data are presented as the mean±standard error (SE) of three independent experiments. Different letters above the error bars indicate statistically significant differences among groups ($P$<0.05) based on Tukey's HSD test. The same below

**图2　棉花中*GhWRKY21*的表达模式分析**

**Fig. 2　Expression pattern analysis of *GhWRKY21* in cotton**

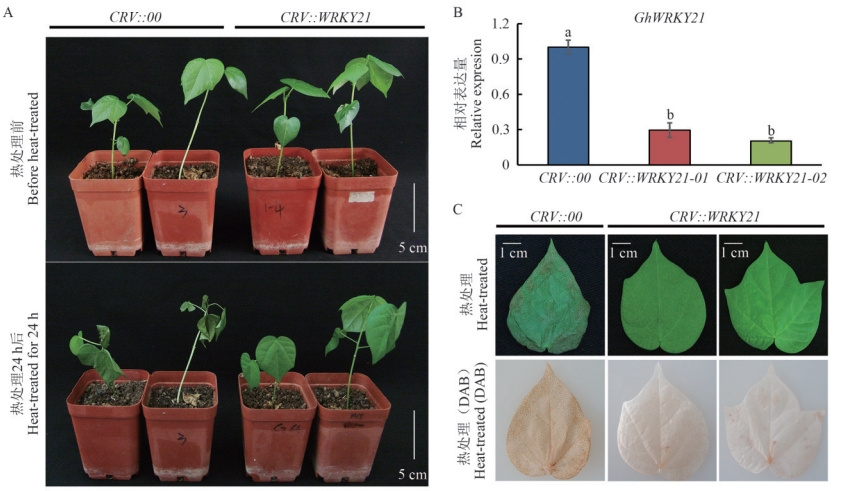
植物防御信号转导途径，参与对多种生物和非生物胁迫的响应。

### 2.3　沉默*GhWRKY21*提高了棉花的耐热性

利用VIGS技术制备*GhWRKY21*沉默棉花植株，在侵染21 d后，*GhWRKY21*的表达水平显著降低，选择表达量降低至30%以下的植株进行后续实验（图3-B）。高温（42 ℃，1 500 lx光照强度，16 h光照/8 h黑暗循环，湿度50%）处理24 h，空载体对照组棉花植株叶片明显萎蔫，*GhWRKY21*沉默棉花萎蔫程度较轻（图3-A）。对叶片进行染色处理（图3-C），空载体对照棉花叶片DAB染色、脱色后叶片颜色明显加深；*GhWRKY21*沉默棉花叶片染色较浅，说明沉默棉花在高温条件下叶片损伤程度轻，活性氧积累少。以上结果表明，在棉花中沉默*GhWRKY21*可以降低植物对高温胁迫的敏感性。

### 2.4　过表达*GhWRKY21*转基因烟草降低了植株的耐热性

受限于实验技术条件及时间因素，本研究未能成功获得*GhWRKY21*过表达的转基因棉花植株。因此，将*GhWRKY21*基因转入模式植物烟草中，成功构建了*GhWRKY21*过表达的转基因烟草株系。通过




A:*GhWRKY21*沉默棉花在高温胁迫处理(42 ℃,24 h)后的典型表型;B:*GhWRKY21*沉默棉花中*GhWRKY21*的表达水平;C:*GhWRKY21*沉默棉花在高温处理(42 ℃,24 h)后叶片的典型表型

A: Representative phenotypes of *GhWRKY21*-silenced cotton plants after heat stress (42 ℃, 24 h). B: Relative expression of *GhWRKY21* in *GhWRKY21*-silenced cotton. C: Representative leaf phenotypes of *GhWRKY21*-silenced cotton plants after heat treatment (42 ℃, 24 h)

**图3 *GhWRKY21*基因沉默增强棉花的耐热性**

**Fig. 3 Silencing of *GhWRKY21* enhances heat tolerance in cotton**

卡那霉素抗性筛选及RT-qPCR验证，筛选出2个独立的过表达株系（#2和#4，分别命名为OE2和OE4）。随后，将$T_2$代转基因植株与空载体对照（Vec）烟草一同种植，用于后续功能分析实验。

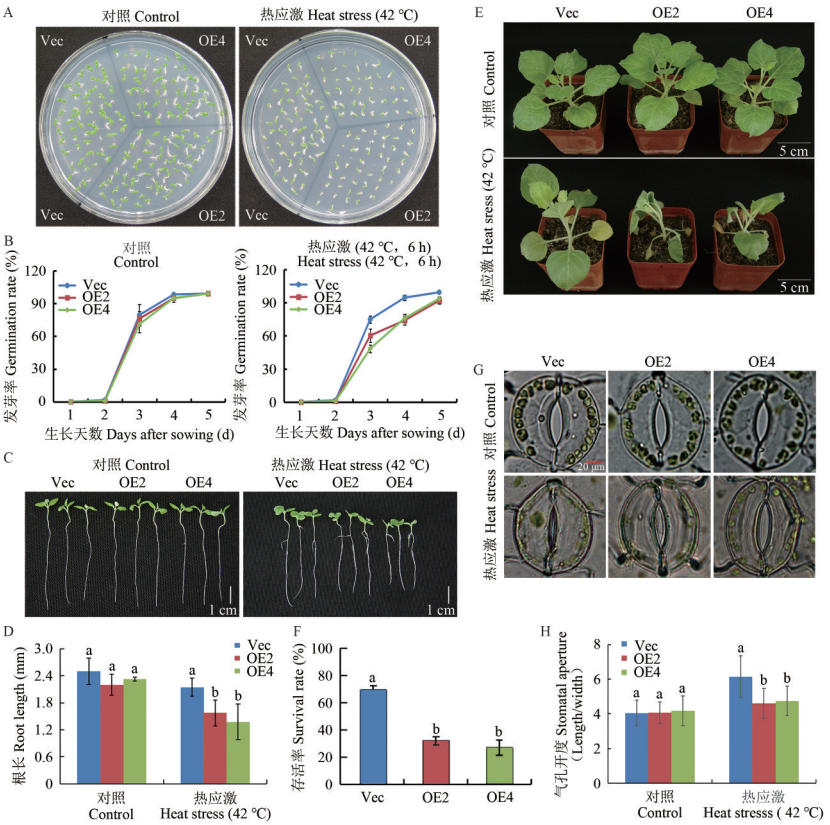
将转基因植株（OE2、OE4）和Vec植株的种子进行消毒，用滤纸吸干水分后逐粒平铺在MS固体培养基上进行培养，待种子开始萌发后，对照组正常管理，实验组高温（42 ℃）暗处理6 h后常规管理。如图4-A–B所示，对照组Vec和OE植株种子萌发率基本相同，实验组种子萌发受高温抑制，且OE植株受抑制高于Vec植株。另外，还观察了高温对植株种子萌发后根系生长的影响。如图4-C–D所示，对照组Vec和OE不同株系植株根长长势基本一致，实验组OE组烟草根长比Vec植株要短。说明*GhWRKY21*的过表达增强了植物种子萌发和根系生长过程中对热胁迫的敏感性。

选择8周龄的烟草植株进行高温处理（42 ℃）12 h，对照组常规培养，实验组OE植株最先发生明显萎蔫（图4-E），继续高温处理72 h后置于正常环境中培养，计算存活率（图4-F）。摘取高温处理12 h的实验组不同植株相同位置叶片进行观察并测量叶表皮保卫细胞的气孔孔径，如图4-G–H所示，对照组中Vec和OE植株的保卫细胞孔径大小基本一致，而实验组中，OE的气孔闭合情况明显不如Vec植株，说明高温使转基因植株气孔关闭功能受损更严重。

综上所述，过表达*GhWRKY21*提高了转基因烟草对高温胁迫的敏感性。

### 2.5 过表达*GhWRKY21*降低植株清除ROS的能力

对Vec和OE植株在高温胁迫下$H_2O_2$和$O^{2-}$的累积情况进行检测。摘取高温胁迫处理实验组不同株系植株相同位置叶片进行染色，如图5-A所示，OE植株较Vec植株着色更深，说明OE植株叶片中$H_2O_2$和$O^{2-}$的积累更多。随后，为了直接验证过表达*GhWRKY21*植物ROS清除能力，使用氧化剂MV进行模拟提高ROS积累，之后检测过表达植株的清除水平（图5-B、C），OE植株的叶片漂白或褪绿现象比Vec植株更严重，MV处理后Vec植株的叶绿素含量高于OE植株。这些数据表明，GhWRKY21会降低植株对氧化胁迫的耐受性，进而通过对ROS网络通路的调控在植物响应高温胁迫时发挥作用。




A、B：空载体对照和转基因植株烟草种子在热处理(42 ℃)6 h后的萌发情况；C、D：空载体对照和转基因植株种子在萌发后热处理(42 ℃)6 d后的根长表型及数据统计；E：8周龄空载体对照和转基因植株在高温处理(42 ℃)12 h后的表型；F：8周龄空载体对照和转基因植株在高温处理(42 ℃)12 h后常规培养存活情况；G、H：高温处理下(42 ℃，12 h)空载体对照和转基因植株气孔闭合程度

A, B: Seed germination phenotype and germination rates of Vec and OE tobacco lines exposed to heat stress (42 ℃, 6 h). C, D: Root length phenotype and statistical analysis of empty vector control and transgenic seeds after germination, exposed to heat stress (42 ℃) for 6 days. E: Phenotypes of Vec and OE plants grown to 8 weeks after 12 h high-temperature treatment (42 ℃). F: Survival rates of 8-week-old Vec and OE after a 12 h high-temperature treatment (42 ℃) followed by recovery under normal growth conditions. G, H: Stomatal closure degree of Vec and OE lines under heat stress (42 ℃, 12 h)

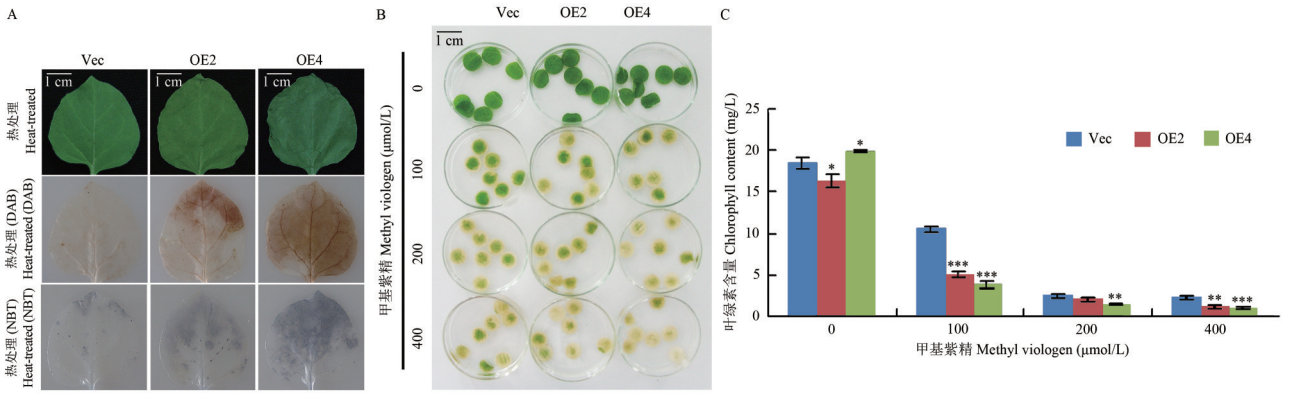
**图4　*GhWRKY21*过表达植株对热胁迫的敏感性增加**

**Fig. 4　Overexpression of *GhWRKY21* increases the sensitivity to heat stress in transgenic plants**

## 3　讨论

### 3.1　GhWRKY21在调节棉花响应高温胁迫时起负调控作用

WRKY是植物中最重要的转录因子（transcription factor, TF）之一，其作用在多种植物中均有报道。拟南芥突变体*wrky11*和*wrky17*在病原菌侵染时抗病性增强，表明WRKY11和WRKY17在生物胁迫中发挥了负调控作用[13]。在玉米中，盐胁迫和干旱胁迫可以诱导*ZmWRKY58*的表达，而过表达*ZmWRKY58*可以通过提高转基因水稻的相对含水量和存活率来降低转基因水稻对盐胁迫和干旱的敏感性[14]，*ZmWRKY106*的过表达通过ABA信号通路调控胁迫相关基因，提高了转基因拟南芥对干旱和高温的耐受性[15]。在番茄中SlWRKY55与SlVQ11协同作用，通过激活*SlHsfA2*增强番茄耐热性[16]。在苹果中MdWRKY75可以结合热休克基因的启动子并激活它们的表达，增加植物的耐热性[17]。IId WRKY TF在植物响应环境胁迫时意义重大，有研究证明，在烟草中过表达*GhWRKY17*可以调控ABA信号通路进而增加植物对盐和干旱的敏感性[4]；*GhWRKY39*过表达烟草的耐盐性和抗病性显著增强，表明GhWRKY39是植物胁迫响应的正调控因子[18]。




A:空载体对照和转基因植株叶片经高温处理后DAB和NBT染色的典型表型;B:空载体对照和转基因烟草植株在含不同浓度MV中培养时的表型;C:对图B中不同浓度下空载体对照和转基因烟草植株叶圆片叶绿素含量进行测定;经Tukey's HSD检验,*$P$<0.05,** $P$<0.01,***$P$<0.001

A: Representative phenotypes of leaves from Vec and OE plants showing DAB and NBT staining after heat treatment. B: Phenotypes of leaf discs obtained from Vec and OE plants after being incubated in different concentrations of MV. C: The chlorophyll content of tobacco leaf discs from empty vector control and transgenic plants under different concentrations was quantified in Fig. B. Tukey's HSD test , * $P$<0.05, ** $P$<0.01, and *** $P$<0.001

**图5 过表达*GhWRKY21*的转基因烟草对氧化应激敏感**

**Fig. 5 Overexpression of *GhWRKY21* increases the sensitivity of transgenic tobacco plants to oxidative stress**

以上结果说明，IId族WRKY TFs的功能是复杂的，因此详细研究IId WRKY TF的功能很有必要。在之前的研究中，我们已经证明GhWRKY21可以通过调控ABA介导的信号通路来调节植株的耐旱性[19]。本研究发现沉默*GhWRKY21*可以提高棉花对高温的耐受性。进一步实验证明，*GhWRKY21*过表达转基因植株在高温胁迫下热敏感性增加，发芽率降低，保卫细胞热损伤严重，这些结果都表明，GhWRKY21在调节棉花响应高温胁迫时起负调控作用。

### 3.2 GhWRKY21通过调节植株体内ROS的水平以响应高温胁迫

ROS信号途径是植物响应外界胁迫不可缺少的调控方式之一。植物体内低浓度的ROS可以发挥信号分子的作用，但是当ROS大量积累时则会引起氧化损伤，故调节植物体内ROS的含量维持适当水平是至关重要的[20]。$O^{2-}$和$H_2O_2$是ROS传导过程中两大重要的信号分子[21]，其含量对于保卫细胞而言可以影响ABA所调控的植物气孔闭合[22-23]。先前的研究提出当ROS的含量增加时，植物体可以通过诱导*SOD*、*CAT*、*APX*等抗氧化基因的表达，增强各组织中这些对应的抗氧化酶的活性来减轻植物的氧化损伤[23]。干旱胁迫可以诱导ABA的产生，进而激活植物抗氧化防御系统，此时植物可以通过增加活性氧清除酶的活性来减少ROS的含量，保护自身免受氧化应激的侵害[24]。在本研究中，DAB和NBT组织化学染色结果表明，高温胁迫下*GhWRKY21*的表达水平可以影响植物体内ROS的积累，而且*GhWRKY21*在棉花中的表达量能够被$H_2O_2$诱导，据此推测GhWRKY21还参与了植物氧化胁迫应答反应。通过对*GhWRKY21*过表达转基因烟草的进一步研究，分析MV模拟环境氧化胁迫的实验结果，发现*GhWRKY21*过表达植株对氧化胁迫更为敏感，从而验证了GhWRKY21可能通过调节ROS水平参与植物的非生物胁迫反应。

## 4 结论

GhWRKY21是棉花IId族WRKY转录因子之一，其表达量受温度、$H_2O_2$和各种信号分子的诱导。沉默*GhWRKY21*会提高棉花的耐热性。在转基因烟草的种子萌发期、幼苗期，GhWRKY21在响应高温胁迫时发挥负调控作用；高温胁迫下GhWRKY21可以通过调节植物ROS的积累来参与植物的非生物胁迫反应。

文章所有附表数据请点击链接获取（https://biotech.aiijournal.com/fileup/1002-5464/NEWS/20260427093555_NewsFile_41.pdf）。

## 参考文献


[1] Yamasaki K, Kigawa T, Inoue M, et al. Structures and evolutionary origins of plant-specific transcription factor DNA-binding domains [J]. Plant Physiol Biochem, 2008, 46(3): 394-401.

[2] Eulgem T, Rushton PJ, Robatzek S, et al. The WRKY superfamily of plant transcription factors [J]. Trends Plant Sci, 2000, 5(5): 199-206.

[3] Jiang YJ, Liang G, Yu DQ. Activated expression of WRKY57 confers drought tolerance in *Arabidopsis* [J]. Mol Plant, 2012, 5(6): 1375-1388.

[4] Yan HR, Jia HH, Chen XB, et al. The cotton WRKY transcription factor GhWRKY17 functions in drought and salt stress in transgenic *Nicotiana benthamiana* through ABA signaling and the modulation of reactive oxygen species production [J]. Plant Cell Physiol, 2014, 55(12): 2060-2076.

[5] Yan Y, Jia HH, Wang F, et al. Overexpression of GhWRKY27a reduces tolerance to drought stress and resistance to *Rhizoctonia solani* infection in transgenic *Nicotiana benthamiana* [J]. Front Physiol, 2015, 6: 265.

[6] 胡启瑞, 宋桂成, 王雪姣, 等. 高温对陆地棉花粉萌发及棉铃发育的影响 [J]. 新疆农业大学学报, 2017, 40(1): 1-7.
Hu QR, Song GC, Wang XJ, et al. Effects of high temperature on pollen germination and boll development in upland cotton [J]. J Xinjiang Agric Univ, 2017, 40(1): 1-7.

[7] 刘群, 陈振, 张巨松, 等. 高温胁迫对海岛棉光合生理及棉铃发育的影响 [J]. 西北植物学报, 2020(9): 1574-1581.
Liu Q, Chen Z, Zhang JS, et al. Effect of high temperature stress on photosynthetic physiology and boll development of island cotton [J]. Acta Bot Boreali Occidentalia Sin, 2020(9): 1574-1581.

[8] Cottee NS, Tan DKY, Bange MP, et al. Multi-level determination of heat tolerance in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) under field conditions [J]. Crop Sci, 2010, 50(6): 2553-2564.

[9] Song GC, Wang MM, Zeng B, et al. Anther response to high-temperature stress during development and pollen thermotolerance heterosis as revealed by pollen tube growth and *in vitro* pollen vigor analysis in upland cotton [J]. Planta, 2015, 241(5): 1271-1285.

[10] Min L, Li YY, Hu Q, et al. Sugar and auxin signaling pathways respond to high-temperature stress during anther development as revealed by transcript profiling analysis in cotton [J]. Plant Physiol, 2014, 164(3): 1293-1308.

[11] Pettigrew WT. The effect of higher temperatures on cotton lint yield production and fiber quality [J]. Crop Sci, 2008, 48(1): 278-285.

[12] 王佳玉. 棉花转录因子GhWRKY21调控植株抗旱和耐高温的分子机理研究 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2020.
Wang JY. Moleculor mechanism of cotton GhWRKY21 transcription factor regulating plant drought and high temperature resistance [D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2020.

[13] 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* [J]. Plant Cell, 2006, 18(11): 3289-3302.

[14] Cai RH, Zhao Y, Wang YF, et al. Overexpression of a maize *WRKY58* gene enhances drought and salt tolerance in transgenic rice [J]. Plant Cell Tiss Organ Cult, 2014, 119(3): 565-577.

[15] Wang CT, Ru JN, Liu YW, et al. Maize WRKY transcription factor ZmWRKY106 confers drought and heat tolerance in transgenic plants [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(10): 3046.

[16] Ma JL, Wang YY, Hong YH, et al. SlWRKY55 coordinately acts with SlVQ11 to enhance tomato thermotolerance by activating *SlHsfA2* [J]. Plant J, 2024, 119(6): 2904-2918.

[17] Zhang ZJ, Yang C, Xi J, et al. The MdHSC70-MdWRKY75 module mediates basal apple thermotolerance by regulating the expression of heat shock factor genes [J]. Plant Cell, 2024, 36(9): 3631-3653.

[18] Shi WN, Hao LL, Li J, et al. The *Gossypium hirsutum WRKY* gene *GhWRKY39-1* promotes pathogen infection defense responses and mediates salt stress tolerance in transgenic *Nicotiana benthamiana* [J]. Plant Cell Rep, 2014, 33(3): 483-498.

[19] Wang JY, Wang LJ, Yan Y, et al. GhWRKY21 regulates ABA-mediated drought tolerance by fine-tuning the expression of *GhHAB* in cotton [J]. Plant Cell Rep, 2021, 40(11): 2135-2150.

[20] Mittler R, Zandalinas SI, Fichman Y, et al. Reactive oxygen species signalling in plant stress responses [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2022, 23(10): 663-679.

[21] Averill-Bates D. Reactive oxygen species and cell signaling. Review [J]. Biochim Biophys Acta BBA Mol Cell Res, 2024, 1871(2): 119573.

[22] Li SH, Liu S, Zhang Q, et al. The interaction of ABA and ROS in plant growth and stress resistances [J]. Front Plant Sci, 2022, 13: 1050132.

[23] Waszczak C, Carmody M, Kangasjärvi J. Reactive oxygen species in plant signaling [J]. Annu Rev Plant Biol, 2018, 69: 209-236.

[24] Miller G, Suzuki N, Ciftci-Yilmaz S, et al. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses [J]. Plant Cell Environ, 2010, 33(4): 453-467.


（责任编辑　李楠）