生物技术通报
· 研究报告 · BIOTECHNOLOGY BULLETIN 2026, 42(10):108-121

参薯*WRKY*基因家族鉴定及其在线虫胁迫响应及激素信号调控中的作用

王明珠[1#] 孙林涛[1#] 常英英[1] 张江利[1] 高锦[1, 2*] 王瑞飞[1, 2] 张昊[1, 2]
李明军[1] 杨清香[1, 2*]
（1.河南师范大学生命科学学院,新乡 453007; 2.河南省农业微生物生态与技术国际联合实验室,新乡 453007）

摘 要:【目的】系统鉴定参薯（*Dioscorea alata*）*WRKY*基因家族成员并解析其基本特征，为研究该家族成员在参薯响应根结线虫胁迫中的功能奠定基础。【方法】基于参薯全基因组数据，利用生物信息学方法对*DaWRKY*基因家族进行系统鉴定，并分析其蛋白理化性质、系统进化关系、基因结构、染色体定位及启动子顺式作用元件。进一步结合转录组数据与RT-qPCR实验，分析*DaWRKY*基因在不同组织、南方根结线虫胁迫以及植物激素（ABA、JA、SA）处理下的表达模式。【结果】*DaWRKY*基因家族包含70个成员，编码蛋白氨基酸数量为127-651，均为亲水性蛋白，预测定位均在细胞核。系统进化分析将其划分为I、II、III三个亚族，其中II亚族占比最高（65.71%）。染色体定位结果显示，该家族成员不均匀分布在15条染色体上。表达谱分析表明，*DaWRKY*基因在根和微型块茎中显著富集。在南方根结线虫胁迫下，8个*DaWRKY*基因在7 d均上调表达，其中*DaWRKY2*上调表达倍数最高；在ABA处理中，仅*DaWRKY33*在1-5 d下调，而*DaWRKY26*上调最显著；JA处理诱导*DaWRKY33*、*DaWRKY69*表达呈现先降后升的趋势，且8个基因在12 h均表现为上调；SA处理中，除*DaWRKY16*外，其他基因均在12 h表达上调。【结论】鉴定出参薯70个*DaWRKY*转录因子，其中*DaWRKY2*、*DaWRKY33*、*DaWRKY46*等成员在根结线虫侵染与ABA、JA、SA等防御激素处理下显著响应，表明*DaWRKY*基因家族在参薯应对生物与非生物胁迫中发挥重要作用。

关键词： 参薯；*WRKY*基因家族；转录因子；线虫胁迫；激素诱导；基因表达
DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2025-1287

Role of the *WRKY* Gene Family in *Dioscorea alata* L. in Response to Nematode Stress Response and Hormonal Signal Regulation

WANG Ming-zhu[1#] SUN Lin-tao[1#] CHANG Ying-ying[1] ZHANG Jiang-li[1] GAO Jin[1, 2*] WANG Rui-fei[1, 2]
ZHANG Hao[1, 2] LI Ming-jun[1] YANG Qing-xiang[1, 2*]
(1. *College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang* 453007; 2. *Henan International Joint Laboratory of Agricultural Microbial Ecology and Technology, Xinxiang* 453007)

Abstract:【Objective】Systematic identification and characterization of *WRKY* gene family members in greater yam (*Dioscorea alata*) were performed to establish a foundation for subsequent research on their functions in response to root-knot nematode stress.【Method】Based on the whole-genome data of *Dioscorea alata*, we conducted a genome-wide identification of the *DaWRKY* gene family using bioinformatics methods. The analyses included physicochemical properties of the encoded proteins, phylogenetic relationships, gene structures, chromosomal locations, and promoter *cis*-acting elements. The expression patterns of the *DaWRKY* gene were analyzed using a combined approach of transcriptome data and RT-qPCR experiments across various tissues, under *Meloidogyne incognita* stress, and in response to treatments with plant hormones (ABA, MeJA, and SA).【Result】A total of 70 *DaWRKY* genes were identified in *D. alata*. The encoded proteins, ranging from 127 to 651 amino

收稿日期： 2025-11-26
基金项目： 国家重点研发计划专项（2023YFD1600600），河南省科技攻关项目（242102111103），国家自然科学基金项目（32401933）
*通信作者： 高锦 gaojin@htu.edu.cn，杨清香 yangqx@htu.edu.cn
#同等贡献

acids in length, were all predicted to be hydrophilic and localized to the nucleus. Phylogenetic analysis classified them into three groups (I, II, and III), with group II being the largest proportion (65.71%). Chromosomal location analysis revealed that these genes were unevenly distributed across 15 chromosomes. Expression profile analysis indicated that *DaWRKY* genes were significantly enriched in roots and microtubers. Under *M. incognita* stress, eight *DaWRKY* genes were up-regulated at 7 d post-infection, among which *DaWRKY2* exhibited the highest fold change in up-regulation. During ABA treatment, only *DaWRKY33* was down-regulated from 1 to 5 d, while *DaWRKY26* showed the most significant up-regulation. JA treatment induced an initial decrease followed by an increase in the expression of *DaWRKY33* and *DaWRKY69*, and eight genes were all up-regulated at 12 h post-treatment. Under SA treatment, all genes except *DaWRKY16* were up-regulated at 12 h.【Conclusion】A total of 70 *DaWRKY* transcription factors were identified in *D. alata*. Among them, members such as *DaWRKY2*, *DaWRKY33*, and *DaWRKY46* showed significant responses to root-knot nematode infection as well as treatment with defense-related hormones including ABA, JA, and SA. These results indicate that the *DaWRKY* gene family plays crucial roles in the response of *D. alata* to biotic and abiotic stresses, providing a foundation for elucidating the stress resistance mechanisms of this crop.

Keywords: *Dioscorea alata*; *WRKY* gene family; transcription factor; nematode stress; hormone induction; gene expression

参薯（*Dioscorea alata*）又名云饼山药、脚板薯、大薯，是薯蓣科（Dioscoreaceace）薯蓣属（*Dioscorea*）的缠绕草质藤本植物，广布于全球热带和温带地区，是药食同源的大宗作物[1]。参薯块茎营养丰富，除作为优质碳水化合物来源为机体提供能量外，还含有人体必需氨基酸，有助于组织修复以及酶与激素的合成；其富含的膳食纤维能促肠道蠕动、调节肠道微生态并降低心血管病风险[2]。在中医药理论中，参薯具有健脾止泻、益肺滋肾等功效；现代研究发现其所含的薯蓣皂苷等活性成分具有抗氧化、抗炎及抗肿瘤等多种药理活性，其多糖类物质也被证实具有免疫调节功能[3]。

转录因子（transcription factors, TFs）是一类能够特异性结合基因启动子区顺式作用元件的DNA结合蛋白，通过激活或抑制靶基因的转录，在生命活动中发挥核心调控作用。目前在植物中已鉴定出多个重要的转录因子家族，如bZIP、bHLH、MYB和WRKY等，它们被广泛证实参与植物的次生代谢、生长发育以及对环境胁迫的响应过程[4]。其中，WRKY是高等植物中最大的转录因子家族之一，其特征性结构包括N端高度保守的WRKYGQK七肽和C端约60个氨基酸的锌指基序，二者决定了该转录因子与靶基因启动子结合的特异性和能力[5]。根据WRKY保守结构域的数量和锌指结构的类型，*WRKY*转录因子家族主要分为3个亚家族：Group I含有两个WRKY结构域，其C端为C2H2型锌指；Group II只含一个WRKY结构域，锌指类型同样为C2H2型，该组可进一步分为5个亚组，且成员数量最多；Group III也含一个WRKY结构域，但其锌指为C2HC型，这类成员多参与胁迫响应过程[6]。

*WRKY*基因家族功能多样，主要参与调控植物生长发育、衰老进程以及对非生物和生物胁迫的应答。例如，杨树*PagWRKY33a/b*通过结合*NRG1.1*和*GASA14*的启动子激活转录，既维持对胶孢炭疽菌的抗性，又参与赤霉素（GA）信号传导以降低免疫激活对生长的抑制，其蛋白稳定性受RNF5介导的泛素化调控，平衡杨树免疫与生长[7]。热胁迫下，6-苄氨基嘌呤（6-BA）可减轻黑麦草叶片衰老，伴随*Lp-WRKY69/70*表达上调，其可能通过调控细胞分裂素或乙烯途径增强耐热性[8]。在苹果中过表达*Md-WRKY100*可增强对胶孢炭疽菌的抗性，而RNAi植株则表现出更高感病性[9]。葡萄*VqWRKY52*受SA强烈诱导，其在拟南芥中异源表达可增强对白粉病的抗性，表明其通过SA依赖途径调控防御相关细胞死亡[10]。此外，多项研究表明*WRKY*基因也参与了植物与根结线虫的相互作用。过表达番茄*SlWRKY45*会显著增加线虫侵染数量，发挥负调控作用，而*Sl-WRKY3*过表达会导致根结线虫侵染率降低，起正调控作用[11-12]。黄瓜*CmWRKY*基因的差异表达也与线虫抗性有关[13]。

参薯作为药食同源作物，其*WRKY*转录因子在线虫胁迫响应及激素信号调控中的作用尚未系统解析。本研究系统鉴定参薯*DaWRKY*基因家族成员，分析其组织特异性表达模式，重点解析对线虫胁迫以及脱落酸（ABA）、茉莉酸甲酯（MeJA）和水杨酸（SA）等激素处理的响应特征，为进一步揭示

*WRKY*转录因子在参薯抗线虫胁迫及激素应答相互调控中的功能机制提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

植物材料为组织培养瓶中生长的、长势一致且健康的参薯组培苗，培养条件为16 h光照、8 h黑暗，光照强度为125 μmol/(m^2·s)，温度26 ℃，相对湿度75%。

1.2 方法

1.2.1 基因数据来源 从拟南芥信息资源中心数据库TAIR（https://www.arabidopsis.org/）和水稻基因组注释项目RGAP（https://rice.uga.edu/）获取拟南芥和水稻全基因组测序及注释文件。从山药组学网站YamOmics（https://biotec.njau.edu.cn/yamdb/）获取参薯（*D. alata*，公布号：GCA_020875875.1）与几内亚山药（*D. rotundata*，公布号：GCF_009730915.1）的全基因组数据及其完整注释信息[14]。

1.2.2 基因家族的筛选鉴定及蛋白质理化性质分析 根据WRKY家族ID号（PF03106）在数据库Pfam（https://pfam.xfam.org/）中检索WRKY隐马尔可夫模型文件（HMM）。以WRKY结构域为模板序列，通过HMMER筛选出山药含有WRKY结构域的预测蛋白，其阈值为E-value<10^{-20}。用HMMER 3.0的hmmbuild功能将筛选的预测蛋白构建为一个山药特异的HMM文件[15]。利用NCBI的保守结构域数据库（CDD）[16]与Pfam数据库对上述结果进行验证，其中E值<10^{-10}，且序列包含完整的WRKY结构域，由此确定*DaWRKY*基因家族成员。通过ExPASy（https://web. expasy. org/protparam/）中的ProtParam tool工具对最终得到的*DaWRKY*基因家族成员的蛋白序列进行理化性质预测，包括氨基酸序列长度、理论分子量、等电点、消光系数、不稳定指数及脂肪族氨基酸指数等，为后续基因功能研究提供基础数据支撑。亚细胞定位预测先通过Cell-PLoc 2.0的Plant-mPLoc（http://www. csbio. sjtu. edu. cn/bioinf/cell-ploc-2/）模块进行多序列批量预测，获得初步分布趋势，再运用DeepLoc 2.1（https://services.healthtech.dtu.dk/services/DeepLoc-2.1/）进行二次验证。

1.2.3 系统发育分析 通过PhyloSuite v1.2.3软件[17]将拟南芥WRKY蛋白序列与参薯中获取的*WRKY*基因家族一同构建系统发育树。先使用MAFFT进行序列比对并修剪，将结果导入ModelFinder以筛选最优模型，系统发育树采用MrBayes v3.2.7a软件构建[18]。根据BIC准则，最佳模型为：JTT+G4。同时参照拟南芥分类方法，用ChiPlot（https://www.chiplot.online/）可视化[19]。

1.2.4 染色体定位、共线性和选择压力分析 从*D. alata*的注释文件中检索染色体位置。根据鉴定出的*DaWRKY*转录因子家族信息和基因组注释文件，并利用TBtools v2.152中的Gene location visualize from GTF/GFF功能进行染色体位置的可视化定位分析[20]。使用TBtools中的MCScanX功能分析参薯与拟南芥（*A. thaliana*）、几内亚山药（*D. rotundata*）和水稻（*O. sativa*）WRKY蛋白之间的共线性。Dual Synteny Plotter软件（https://github. com/CJ-Chen/TBtools）用于计算候选同源基因对的同义（K_s）和非同义（K_a）替换率。

1.2.5 基因结构、保守结构域与基序组成分析 通过在线生信工具MEME（https://memesuite. org/meme/tools/meme）预测*DaWRKY*家族Motif数量及分布情况[21]，进一步挖掘*DaWRKY*特征的Motif序列，基序参数设定为10，其余默认值。利用TBtools软件的GFF Parser功能模块从参薯基因组注释文件中提取*DaWRKY*家族基因的外显子和内含子等基因结构信息。同时，利用NCBI中的Batch CD-Search对*DaWRKY*家族成员蛋白序列进行保守结构域分析。并用TBtools中内置工具Gene Structure Shower对*DaWRKY*家族进行基因结构分析结果可视化。

1.2.6 启动子顺式作用元件分析 从参薯的全基因组数据库中提取*DaWRKY*基因家族成员5′端上游2 000 bp的序列作为候选启动子序列，使用PlantCARE（http://bioinformatics. psb. ugent. be/webtools/plantcare/html/）分析启动子中的顺式作用元件，对筛选后的顺式作用元件进行注释，并结合进化树利用TBtools进行可视化绘图[22]。

1.2.7 *DaWRKY*基因在不同组织中的表达分析 从山药组学平台YamOmics中提取*DaWRKY*基因的表达量信息，并对该基因在12个组织（包括Leaf-Nonflowering、Leaf-30Day、Leaf-Adult、Stem-Nonflowering、Tuber-Nonflowering、Tuber-Flowering、

Tuber-WhiteFlesh、Tuber-PurpleFlesh、Bulbil-Initiation、Bulbil-Early、Bulbil-Middle及Bulbil-Mature）中的表达水平展开分析，随后运用TBtools软件构建热图，实现对上述表达数据的可视化呈现。

1.2.8　候选基因RT-qPCR验证　将参薯带芽茎段接种于液体生根培养基（MS+6-BA 2.33 mg/L+NAA 0.1 mg/L+PP_{333} 0.2 mg/L+蔗糖30 g/L）中，每15 d更换一次培养基[23]。选取60 d的参薯组培苗根、茎、叶、微型块茎（每瓶组培苗腋芽部位形成的所有微型块茎混合为一个生物学重复）样品，使用植物RNA提取试剂盒（南京诺唯赞生物科技股份有限公司）提取样本总RNA，其浓度通过超微量分光光度计测定。以此RNA为模板进行反转录，获得参薯cDNA。针对所选基因，设计RT-qPCR特异性引物，并委托生物工程（上海）股份有限公司合成，引物序列见附表1。反应体系为10 μL，程序为：95 ℃ 3 min；95 ℃ 30 s，58 ℃ 30 s，72 ℃ 30 s，40个循环。每样品设4个生物学重复，利用$2^{-\Delta\Delta Ct}$方法计算基因相对表达量。

1.2.9　*DaWRKY*基因在线虫和激素处理下的表达分析　为分析*DaWRKY*基因的表达模式，分别设置了线虫侵染与激素处理实验，所用参薯组培苗均培养60 d后进行处理。从受南方根结线虫侵染的番茄根系分离虫卵[24]，孵化后获得二龄幼虫（J2）。经无菌水反复洗涤并收集、制备线虫悬液。每株参薯组培苗接种1 500条J2幼虫，分别于接种后0、1、3、5和7 d采集根部样品，以覆盖线虫侵入、诱导取食位点（巨细胞初始形成）形成与发育，以及寄生关系建立等关键阶段[25-27]。采用喷雾法将100 μmol/L的ABA、MeJA和SA溶液分别均匀喷施于叶片正反面，直至叶面完全湿润、液滴开始汇聚下滴为止，分别于处理后0、1、4、12 h采集根部样品[28]。上述每个处理组均包含3个生物学重复，具体实验方法同1.2.8。

2　结果

2.1　*DaWRKY*基因家族的鉴定及基本理化性质分析

从NCBI检索参薯蛋白数据，经Pfam-HMMER保守序列筛选、SMART保守结构域预测去除假阳性，鉴定出70个含典型WRKY结构域的参薯转录因子，命名为*DaWRKY1*–*DaWRKY70*（附表2）。理化性质分析结果显示：氨基酸数127–651，相对分子质量14 693.43–76 946.07 Da，等电点4.79–10.3（含酸性及碱性蛋白）；脂肪族指数40.15–75.85，多数DaWRKY蛋白较稳定（>55）；平均亲水性-1.226–-0.39，均为亲水蛋白；仅55个蛋白不稳定系数<40，稳定蛋白占比为7.14%。蛋白质二级结构预测显示，包含α-螺旋、β-转角和无规则卷曲这3种结构，以无规则卷曲为主，其次是α-螺旋，β-转角占比较小。亚细胞定位预测显示70个WRKY蛋白全部位于细胞核（nucleus），这与多数植物中的预测结果相似。

2.2　*DaWRKY*基因家族系统进化分析

为进一步了解参薯中*WRKY*基因的进化关系，将其与模式植物拟南芥的WRKY家族进行了系统发育比较分析（图1）。70个*DaWRKY*分为3个组（I、II和III）。I组最少，包含11个*DaWRKY*基因；II组包含的*DaWRKY*基因最多，有46个；III组包含13个*DaWRKY*基因。II组进一步分为IIa、IIb、IIc、IId和IIe亚组，分别由5、7、16、10和8个*DaWRKY*基因组成。IIa和IIb、IId和IIe在系统发育树上分布较近，IIc的分布较接近III组，表明两亚组的进化关系较近。

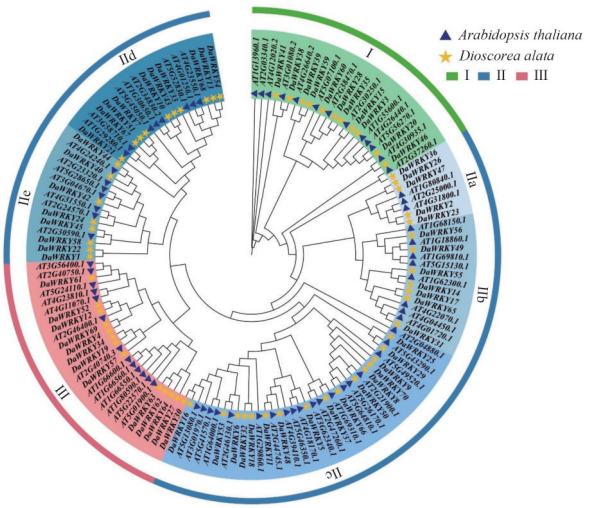


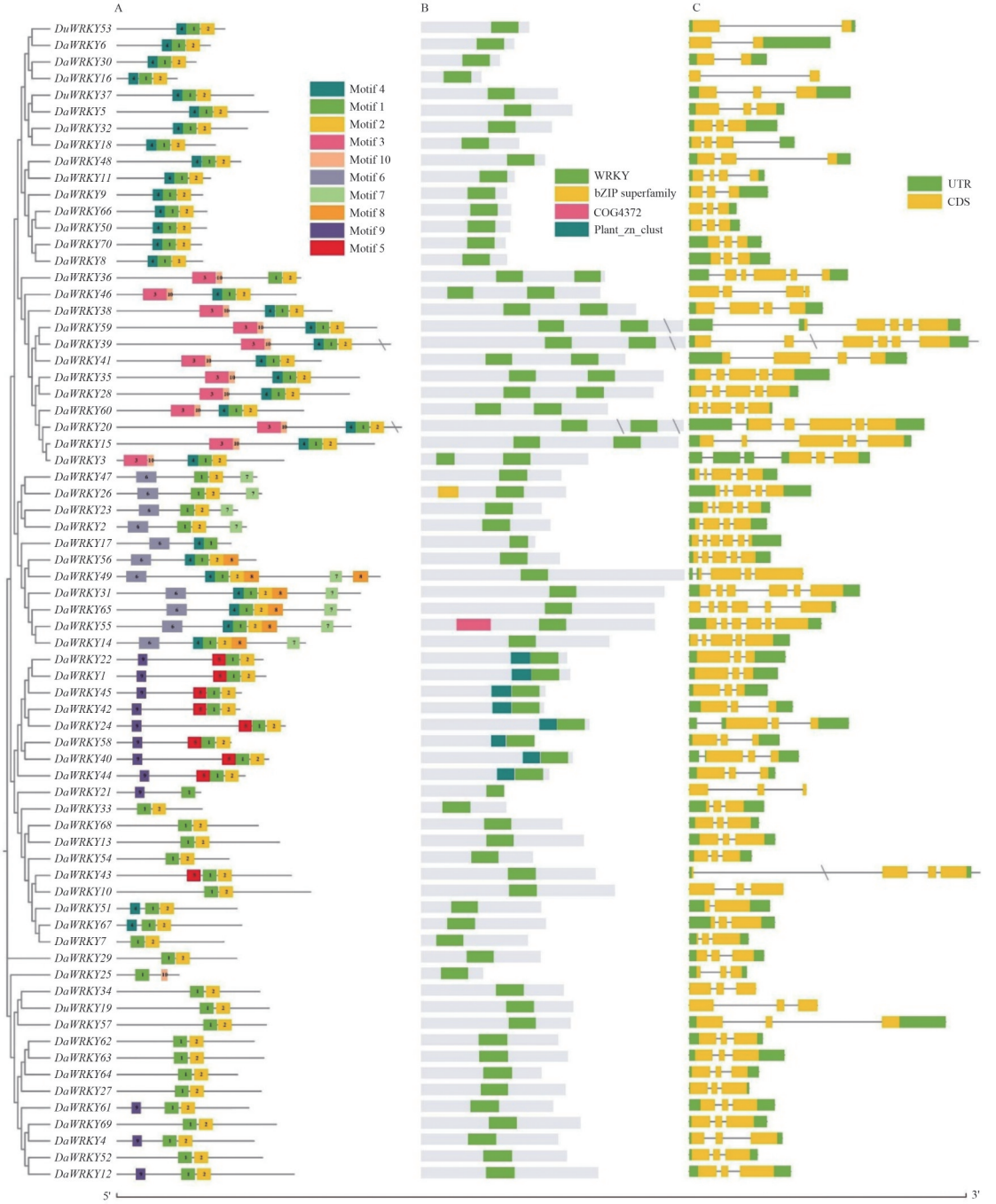
图1　参薯与拟南芥*WRKY*基因家族系统进化树

Fig. 1　Phylogenetic tree of *WRKY* gene family in *D. alata* and *A. thaliana*

2.3　*DaWRKY*基因家族蛋白保守基序及结构域分析

对鉴定出的70个*WRKY*基因家族成员进行Motif

分析，共筛选出10种保守蛋白基序（图2-A），每个成员包含2–6个基序。各成员所含Motif种类存在差异，其中Motif 1存在于所有蛋白中，而除*DaWRKY17*和*DaWRKY25*外，其余成员均含有Motif 2。



为便于排版，对较长的基因进行了部分截断（用\表示），示意图中只展示基序、结构域、CDS区的相对位置，不代表它们在基因或蛋白上所处的绝对位置

For typesetting purposes, longer genes have been partially truncated (indicated by \). The schematic diagram only shows the relative positions of motifs, domains, and CDS regions, and does not indicate their absolute locations in the gene or protein

图2 *DaWRKY*的基序分布（A）、保守结构域（B）及基因结构分析（C）

Fig. 2 Motif distribution (A), conserved domain (B), and gene structure (C) analysis of *DaWRKY*

部分基序表现出明显的组别特异性分布：Motif 3仅存在于第I组，Motif 6仅分布于IIa和IIb亚组，而Motif 5和Motif 9则几乎仅见于IIe亚组。总体而言，同一组内成员的保守基序组成相似，提示DaWRKY蛋白在功能上可能具有保守性。

DaWRKY蛋白的保守结构域分析结果显示（图2-B），所有70个成员均含有WRKY结构域。其中，8个成员（均属于IIe亚组）额外含有WRKY或植物锌簇结构域。*DaWRKY26*（IIb亚组）包含b-ZIP超家族结构域，而*DaWRKY55*则含有COG-4372结构域。

进一步分析*DaWRKY*基因结构（图2-C），结果显示，70个*DaWRKY*基因中有5个（*DaWRKY10*、*DaWRKY16*、*DaWRKY19*、*DaWRKY21*和*DaWRKY46*）不含非翻译区（UTR）。上述结构特征表明，*WRKY*基因家族可能已从功能相对冗余的基本单元，演化形成具备功能分化与协同调控能力的复杂网络，从而增强细胞在多变环境中的适应性及其生命活动的调控能力。

2.4　*DaWRKY*基因启动子顺式作用元件分析

*DaWRKY*基因上游2 000 bp启动子区域的顺式作用元件预测结果显示，*DaWRKY*启动子区包含多种与激素应答、胁迫响应及生长发育相关的顺式作用元件（图3）。在70个*DaWRKY*基因的启动子中，共鉴定出胁迫响应元件1 129个、激素响应元件799个、MYB干旱/高盐/低温响应元件603个以及光响应元件723个。其中，64个*DaWRKY*基因启动子中含有238个G-box元件，58个基因启动子中含有236个脱落酸响应元件（ABRE），51个基因启动子中含有118个乙烯响应元件（ERE），55个基因启动子中含有136个茉莉酸甲酯响应元件（CGTCA-motif/TGACG-motif）。推测*DaWRKY*基因在参薯激素调控、生长发育和逆境胁迫中发挥着重要作用。

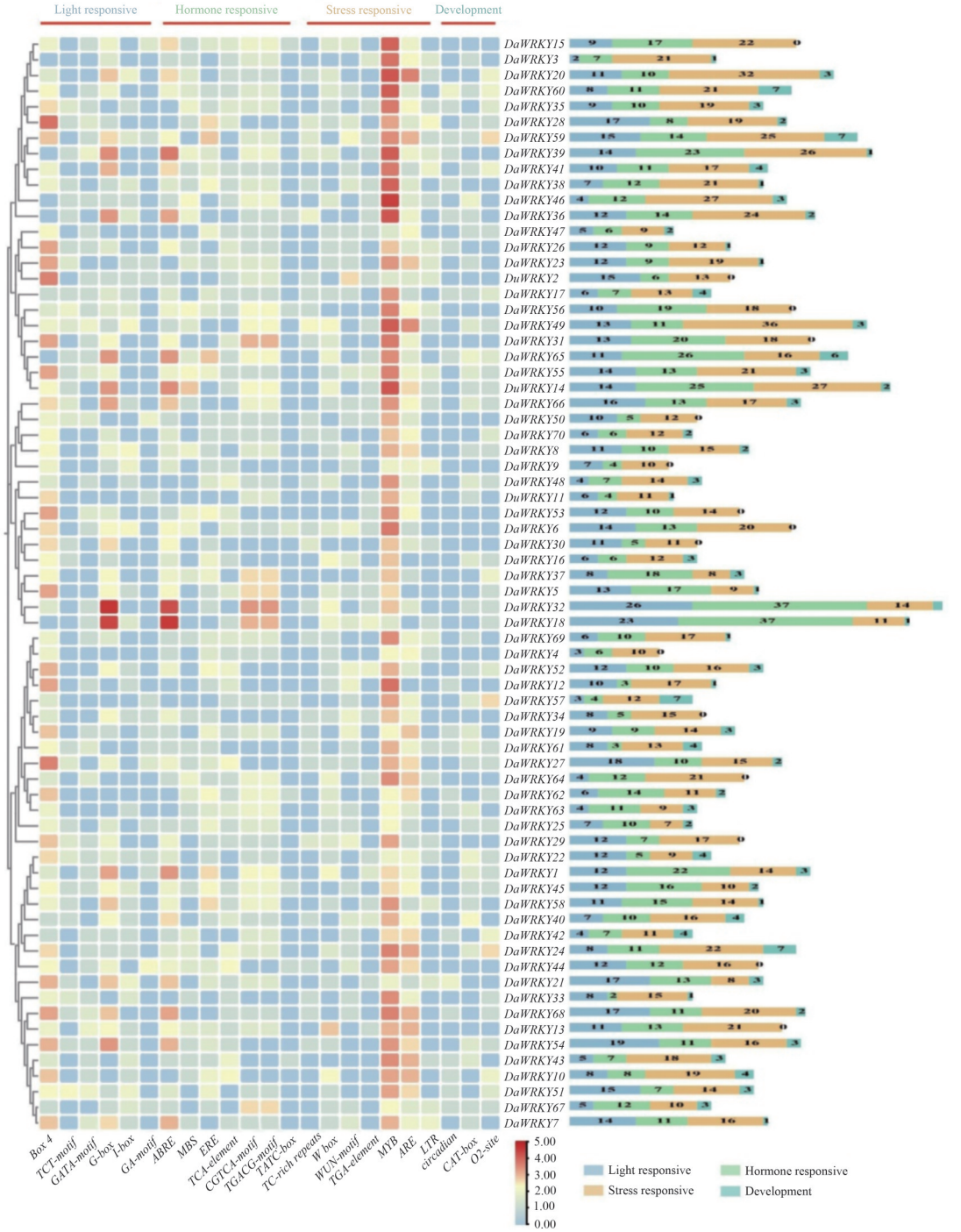
2.5　染色体定位和共线性分析

在参薯的20条染色体中，*DaWRKY*基因不均匀地分布于15条染色体上（Chr03、Chr04、Chr05、Chr07、Chr08、Chr09、Chr10、Chr12、Chr13、Chr15、Chr16、Chr17、Chr18、Chr19和Chr20）（图4-A）。其中，Chr04和Chr17上分布的基因数量最多，各有8个；Chr19次之，分布有7个*WRKY*基因；Chr08、Chr12和Chr20则各含有6个*WRKY*基因，显示出明显的基因成簇现象，可能反映该区域在进化过程中发生过基因重复事件或具有重要功能。Chr10上仅定位有1个*WRKY*基因（*DaWRKY30*），而Chr01、Chr02、Chr06、Chr11和Chr14上未发现*WRKY*基因分布，其余染色体上各含有2–5个*DaWRKY*基因。值得注意的是，*DaWRKY*基因多集中分布于染色体末端区域，其在染色体上的广泛分布凸显了*WRKY*基因家族在参薯进化过程中的重要性及潜在功能多样性。此外，共鉴定出6对串联重复基因，分别位于Chr04（2对）、Chr12（1对）、Chr13（1对）和Chr17（2对）。

为探究*WRKY*基因家族的进化保守性，利用MCSCANX软件进行了共线性分析。种内共线性分析识别出30对片段重复基因（图4-B），这些基因对均属于同一亚组，提示其可能源自染色体片段的复制事件，且在进化过程中未发生明显功能分化，或存在功能冗余。进一步的种间共线性分析表明，参薯（*D. alata*）与几内亚山药（*D. rotundata*）、水稻（*O. sativa*）及拟南芥（*A. thaliana*）之间分别存在93、92和46对共线性*WRKY*基因（图5）。为深入解析*DaWRKY*基因的进化机制，本研究计算了其非同义替换率（*Ka*）、同义替换率（*Ks*）及*Ka*/*Ks*比值（附表3）。结果显示，*DaWRKY*基因的*Ka*/*Ks*比值均显著小于1，表明该基因家族在进化过程中主要受到纯化选择作用。

2.6　*DaWRKY*基因家族在不同组织和生长发育中的热图分析

为明确70个*DaWRKY*基因在参薯不同发育阶段的表达模式，我们从公共数据库中获取了12个组织的转录组数据，包括非开花期叶、30日龄叶片、成熟叶片、非开花期茎、非开花期块茎、开花期块茎、白色块茎、紫色块茎、膨大前期珠芽、膨大早期珠芽、膨大中期珠芽以及成熟期珠芽。70个*DaWRKY*基因在不同组织中呈现特异性表达（附图1），反映出该基因家族在参薯中可能具有功能多样性。所有*DaWRKY*基因可被划分为若干表达簇，其中52个基因在全部12个组织中均有表达。*DaWRKY1*、*DaWRKY41*、*DaWRKY46*、*DaWRKY45*和*DaWRKY22*在所有组织中表达水平相对较高。整体来看，*DaWRKY*基因在块茎和珠芽中表达较为显著，表明*WRKY*基因可能在这两类组织中发挥更为重要的调控作用。

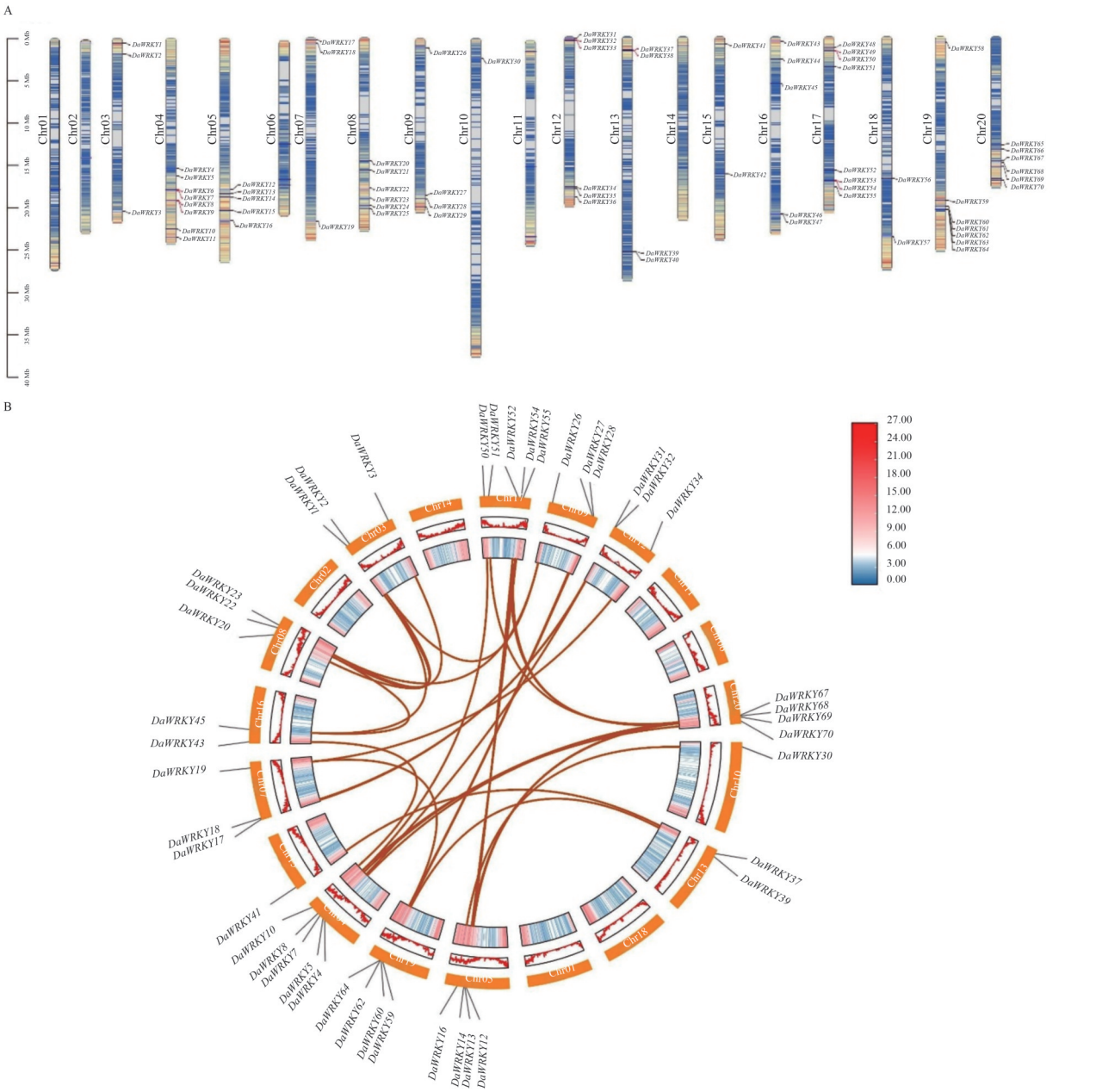


中间面板是显示顺式作用元件富集水平的热图。右边的堆积图显示了顺式作用元件的丰度：蓝色矩形表示光响应顺式作用元件；绿色矩形表示激素响应顺式元件；黄色矩形表示胁迫响应的顺式元件；青色矩形表示与生长和发育相关的顺式元件

The central panel is a heatmap displaying the enrichment levels of *cis*-acting elements. The stacked bar chart on the right illustrates the abundance of *cis*-acting elements: blue rectangles represent light-responsive *cis*-acting elements; green rectangles, hormone-responsive *cis*-elements; yellow rectangles, stress-responsive *cis*-elements; while cyan rectangles denote *cis*-elements associated with growth and development

图3 *DaWRKY*基因顺式作用元件分析

Fig. 3 Analysis of the *cis*-acting elements of the *DaWRKY* gene



A：彩色矩形条表示*D. alata*的染色体；Chr1–20表示对应的染色体；红色粗轮廓表示基因串联重复，0–40 Mb的刻度表示染色体长度。B：红色线条表示片段重复，通过红色线条连接的两个基因是同源的。基因密度由热图（内圈）表示，外圈显示染色体的长度，最外圈的黑色线段表示基因在染色体上的定位

A: Colored rectangular bars represent the chromosomes of *D. alata*; Chr1–20 indicate the corresponding chromosomes; the red thick outlines indicate gene tandem duplications, and the scale bar of 0–40 Mb represents the chromosome length. B: Red lines indicate segmental duplications, and the two genes connected by red lines are homologous. Gene density is represented by heatmap (inner circle), the outer circle shows the chromosome length, and the black line segments on the outermost circle indicate the gene locations on the chromosomes

图4　参薯*DaWRKY*基因家族的染色体位置（A）和共线性分析（B）

Fig. 4　Chromosomal location (A) and collinearity analysis (B) of *DaWRKY* gene family in *D. alata*

2.7　*DaWRKY*基因家族的表达特性分析

2.7.1　组织表达特异性分析　基于拟南芥、水稻、玉米、番茄等模式植物中已知参与抗病、生物胁迫及激素信号通路相关的WRKY蛋白序列[29–33]，通过同

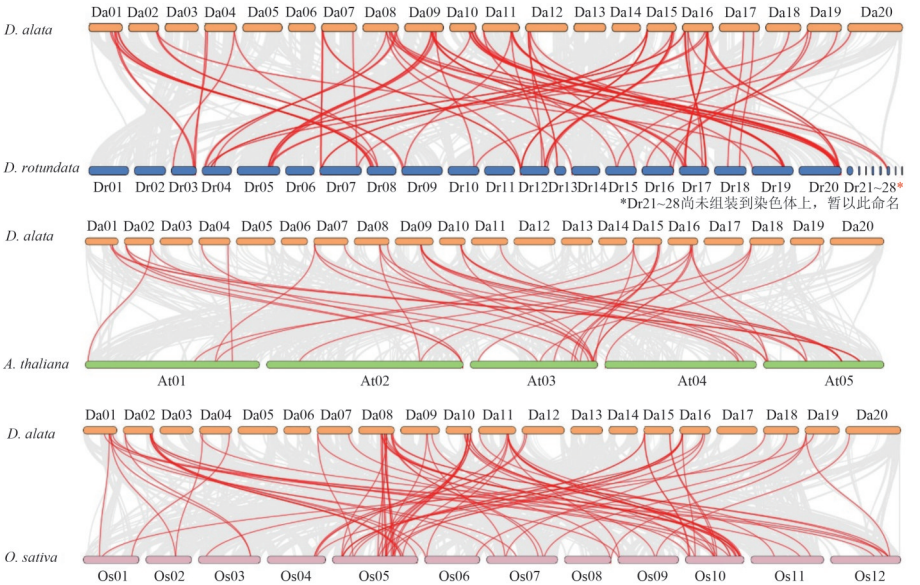


图5 参薯(*D. alata*)、几内亚山药(*D. rotundata*)、水稻(*O. sativa*)和拟南芥(*A. thaliana*)*WRKY*基因的共线性分析

Fig. 5 The collinearity analysis of *WRKY* genes in *D. alata*, *D. rotundata*, *O. sativa*, and *A. thaliana*

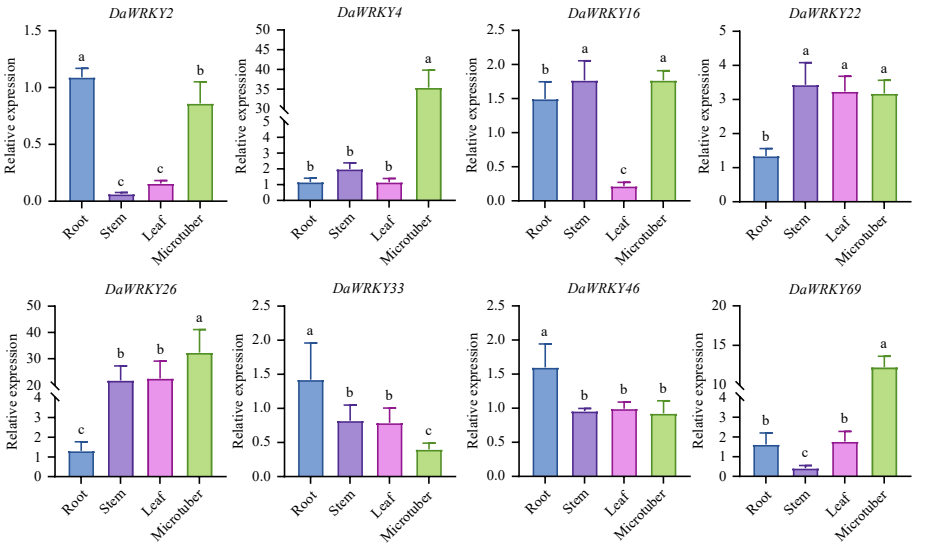
源比对与系统分析，并结合参薯*WRKY*基因家族的组织表达模式，最终筛选出8个参薯*WRKY*基因家族成员，分别为*DaWRKY2*、*DaWRKY4*、*DaWRKY16*、*DaWRKY22*、*DaWRKY26*、*DaWRKY33*、*DaWRKY46*和*DaWRKY69*，通过RT-qPCR检测其在根、茎、叶和微型块茎中的表达水平（图6）。结果显示，继代培养60 d的组培苗中，不同*DaWRKY*基因的表达具有明显的组织特异性。*DaWRKY2*在根中的表达水平最高，显著高于其他组织，其表达量依次为根>微型块茎>叶>茎。*DaWRKY33*和*DaWRKY46*同样在根中表达量最高。*DaWRKY4*、*DaWRKY26*和*DaWRKY69*在微型块茎中表达最为显著。茎中表达最高的是*DaWRKY16*和*DaWRKY22*，而表达最低的是*DaWRKY2*和*DaWRKY69*。此外，*DaWRKY22*和*DaWRKY26*在根中表达量最低，*DaWRKY16*则在叶片中表达量最低。

2.7.2 线虫胁迫下的表达模式分析 RT-qPCR分析结果显示，在根结线虫胁迫下，*DaWRKY33*的表达量呈现先下降后显著上升的趋势；*DaWRKY4*在胁迫3 d时显著上升，5 d时下降，7 d时再次显著上调；*DaWRKY16*在7 d时表达量有所下降；其余5个基因均在5 d时显著上升，并于7 d时持续上调（图7）。

2.7.3 激素处理下的相对表达分析 在ABA处理下，*DaWRKY33*的表达量在整个处理期间显著降低；*DaWRKY46*在1 h显著升高，4 h下降，12 h再次显著上升；*DaWRKY16*、*DaWRKY22*和*DaWRKY69*均在12 h时显著上升；*DaWRKY2*和*DaWRKY26*的表达量随处理时间显著上升（图8-A）。MeJA处理结果显示，*DaWRKY22*、*DaWRKY33*和*DaWRKY69*的表达量呈现先下降后上升的趋势，12 h时达到峰值；*DaWRKY26*在整个过程中显著上调；其余4个基因在12 h均显著上调（图8-B）。SA处理结果显示，*DaWRKY2*、*DaWRKY26*和*DaWRKY69*在1 h显著上调，4 h下降，12 h再次上升，整体呈显著上调趋势；*DaWRKY4*和*DaWRKY33*为先下降后上升，12 h时达到最高表达水平；*DaWRKY16*表达量先下降后略有回升，但整体趋于下降；*DaWRKY22*和*DaWRKY46*在12 h表达量显著上调（图8-C）。

3 讨论

参薯共鉴定出70个WRKY家族基因，高于同属山药（25个）[34]、菊叶薯蓣（21个）[35]、盾叶薯蓣（27个）[36]，但低于甘薯（泰中6号）（84个）[37]、绣球（84个）[38]、枇杷（100个）[39]、红花（87个）[40]。可见，薯蓣属植物间WRKY家族基因数目存在显著差异，这种数目变异可能与其功能多样化相关。



不同小写字母表示组间存在显著差异(P<0.05)，下同

Different lowercase letters indicate significant differences among groups (P<0.05). The same below

图6　*DaWRKY*基因在不同组织中的相对表达量

Fig. 6　Relative expression of *DaWRKY* in different tissues

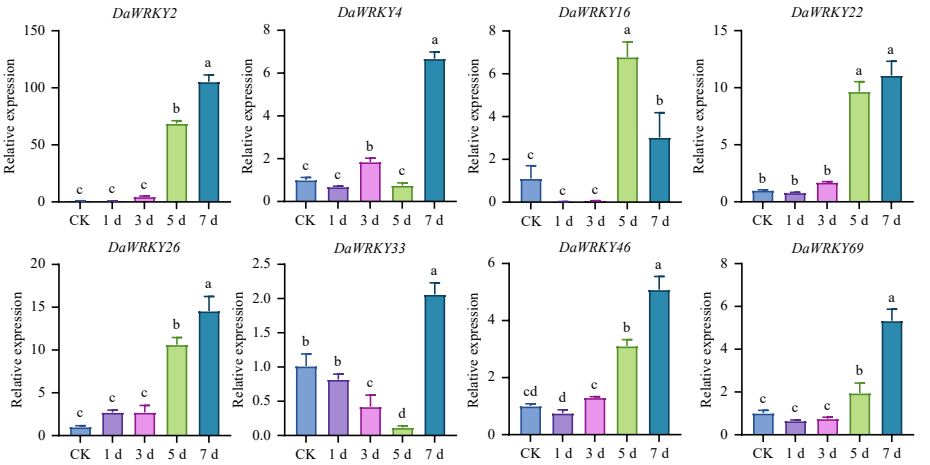
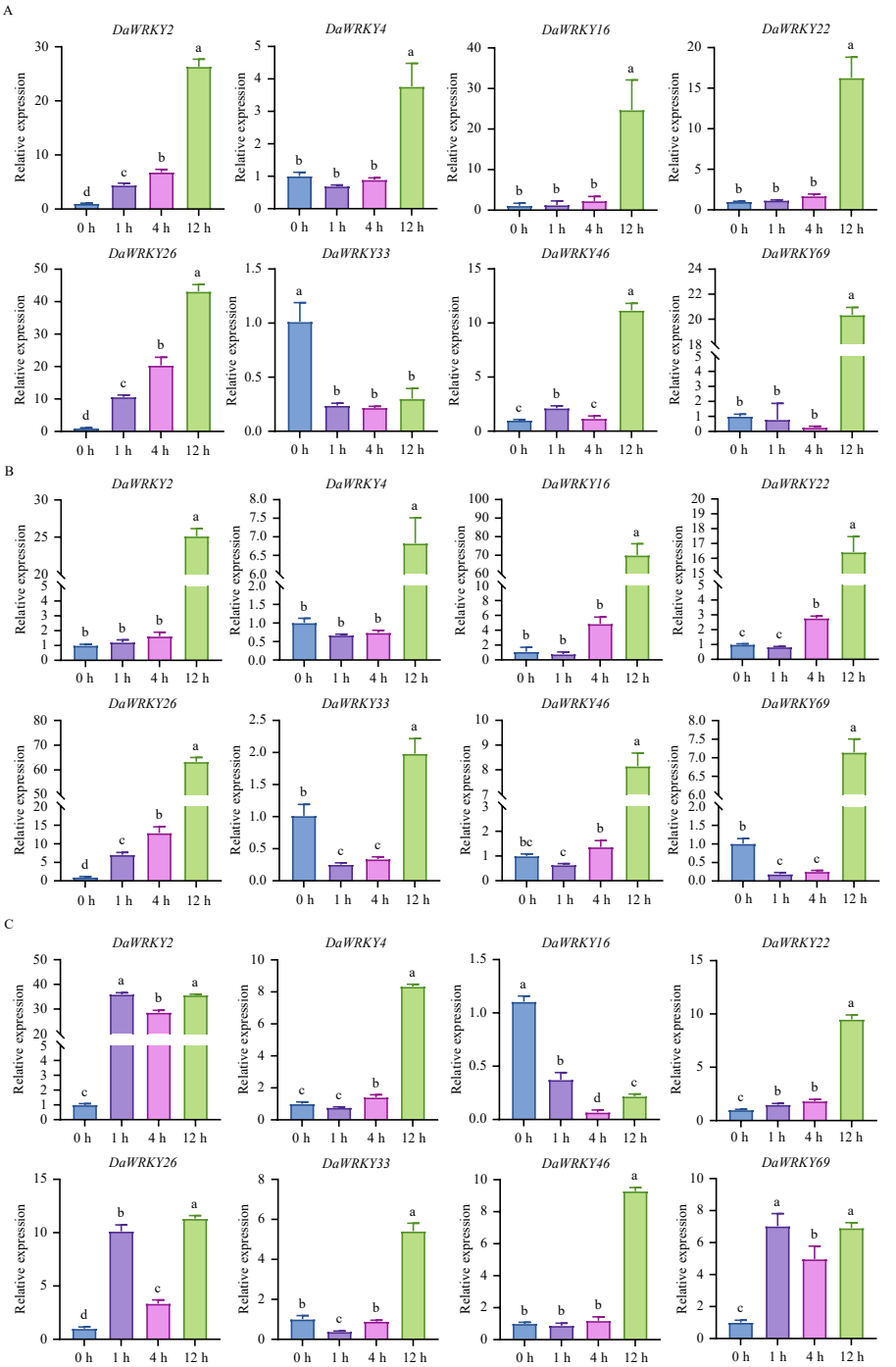


图7　*DaWRKY*基因在接种南方根结线虫不同时期的相对表达量

Fig. 7　Relative expression of *DaWRKY* genes at different stages after *M. incognita* inoculation

基于参薯WRKY成员的鉴定，进行系统发育关系、启动子顺式作用元件、共线性等生物信息学分析，为揭示WRKY家族的进化动态和功能多样性奠定了基础。系统发育分析将*DaWRKY*基因家族分为I组、II组（含5个亚组）和III组，各组成员占比分别为15.7%、65.7%和18.6%，与多数作物分类结果一致[29]。值得注意的是，II组在参薯中占比超过总数的一半，而拟南芥中该组比例仅为40%[41]。推测II组基因在参薯进化过程中可能经历了更多的基因复制。70个*DaWRKY*均鉴定到胁迫、激素和光响应元件，与前人结果一致，表明其表达可能受上述因素调控[42]。此外，多数*DaWRKY*基因的启动子都含有生长相关元件，表明其可能参与植物生长发育等过程。MYB是植物中成员最多的转录调节因子家族之一，例如茄子*SmMYB13*被证实是干旱胁迫的正调控因子[43]。同时发现603个MYB干旱、高盐、



A：ABA处理；B：MeJA处理；C：SA处理

A: Treatment with ABA. B: Treatment with MeJA. C: Treatment with SA

图8 *DaWRKY*基因在不同激素处理下不同时间的相对表达量

Fig. 8 Relative expression of the *DaWRKY* gene at different time under various hormonal treatments

低温响应元件，推测*DaWRKY*与MYB在干旱胁迫及其他逆境响应中可能存在互作机制。*DaWRKY*基因染色体定位显示分布不均，Chr04和Chr17最多（各8个），Chr10仅有1个，5条染色体上未分布任何基

因，且集中于两端。该分布与水稻减数分裂中同源染色体配对始于末端的研究一致[44]，这为上述分布特征提供了可能的理论解释。共线性分析显示，参薯与几内亚山药共有93对共线性基因，提示薯蓣属内WRKY进化较为保守；参薯与水稻（92对）的共线性基因数量多于拟南芥（46对），反映出单子叶植物间进化关系更近，WRKY家族在单子叶与双子叶植物分化后发生了功能分化。此外，共鉴定到6对串联重复和30对片段重复，表明片段重复事件在*DaWRKY*基因演化中起到关键作用，这与大白菜的研究结果一致[45]。

根结线虫主要在根部侵染，分析*DaWRKY*基因在不同组织中的表达模式，有助于从全株系统调控的角度解析参薯对线虫的抗性机制。表达谱分析表明，*DaWRKY*基因在块茎和珠芽中表达较高，且存在组织特异性，这与盾叶薯蓣*DzWRKY*在叶片低表达的模式不同[36]。不同组织RT-qPCR检测结果显示，*DaWRKY*的高表达主要存在于根和贮藏器官中。值得关注的是，*DaWRKY2/33/46*在根中高表达，并且在南方根结线虫侵染条件下，*DaWRKY2/46*表达量均在接种后5、7 d上调，其中*DaWRKY2*表达增幅最高，表明它们可能在根部防御反应中发挥关键作用。而*DaWRKY33*呈现先下降后上升的趋势，说明上述基因共同参与了参薯对根结线虫侵染的应答过程。在微型块茎中表达较高的*DaWRKY4/26/69*也能在线虫胁迫5–7 d强烈诱导下上调。比较不同物种中*WRKY*基因的响应模式发现，甘薯*IbWRKY20*和*IbWRKY40*受茎腐病胁迫诱导而上调，而*IbWRKY6*、*IbWRKY84*则表达下调[37]，反映出不同病原胁迫下WRKY响应模式的差异。

线虫侵染会激活植物的防御反应，并引发ABA、JA、SA等防御激素水平的变化[46–47]，因此，研究*WRKY*转录因子对这些激素的应答表达，有助于解析植物抗线虫的分子机制。外源ABA处理中，除引起*DaWRKY33*表达量显著下调外，其余基因均显著上调，其中*DaWRKY26*表达量最高。在线虫侵染下，*DaWRKY33*在接种后1–5 d表达持续下调，推测线虫侵染通过激活宿主ABA合成或信号转导，从而类似外源ABA处理抑制其转录。这一响应模式与山药中*DoWRKY33*在ABA处理后12 h内显著上调的结果不同[34]，揭示了参薯对ABA的特异性响应机制，为利用ABA精准调控抗线虫胁迫提供分子依据。MeJA处理下，2个基因呈现“先降后升”的表达模式，与山药*DoWRKY69*相似[34]；另有7个基因在12 h均显著上调，显示出MeJA短期高效启动防御基因的特征，这与线虫侵染初期的快速防御需求相对应。此外，番茄中*SlWRKY45*可通过与JA信号抑制子JAZ互作负向调节对根结线虫的抗性，敲除可显著降低根结指数[46]，SlWRKY30IIc与茉莉素通过多层级的互作与反馈，共同精细调控植物对根结线虫的抗性[33]。这些基因可能通过JA信号通路在线虫侵染早期抑制取食或促进组织修复，为MeJA在参薯中短期抗线虫的时序调控提供分子依据。SA处理则诱导正调控因子（*DaWRKY2/26/69/4/33/22/46*）与负调控因子（*DaWRKY16*）协同，既保障防御强度，又避免过度应激，维持参薯“抗病–生长”的平衡。其中*DaWRKY2*在SA处理1 h内显著上调，并在12 h内持续高表达，与其在线虫侵染中高表达的结果一致，说明其可能作为SA通路的关键因子，介导对线虫的早期识别与基础防御。类似机制在其他作物中也有报道：番茄*SlWRKY70*受SA诱导并响应虫害[12]，油菜*BnaWRKY75*可通过激活SA合成基因增强抗病性[47]。此外，*DaWRKY16*在茎部的表达较高，而在SA处理下受抑制，可能有助于优化防御信号的传导与资源分配。

本研究在全基因组水平系统鉴定参薯*DaWRKY*基因家族，揭示其基本特征与调控模式，筛选出多个响应根结线虫胁迫及激素时序调控的关键基因。该家族在线虫侵染与激素处理下表达模式复杂，可整合ABA、JA、SA等信号，参与从早期识别、快速防御到系统抗性的多阶段响应，在抗线虫防御网络中起核心调控作用。不同基因在线虫侵染不同阶段执行特异功能，如*DaWRKY33*表达先降后升，多数基因接种7 d内持续上调。后续可通过功能验证解析其调控网络，为阐明块茎作物抗线虫分子机制及靶向育种提供理论依据。

4　结论

在参薯中系统鉴定出70个*DaWRKY*转录因子，系统发育树分为3个亚群和7个分支。70个*DaWRKY*基因不均匀地分布在15条染色体上，片段复制事件为基因家族扩张的主要方式，启动子均含胁迫、激素、光响应元件及生长相关元件，基因*DaWRKY2*、

DaWRKY22、*DaWRKY26*、*DaWRKY46* 和 *DaWRKY69* 与线虫胁迫及激素信号通路调控相关。

文章所有附图附表请点击链接查看（https://biotech.aiijournal.com/fileup/1002-5464/NEWS/20260630160610_NewsFile_68.pdf）。

参考文献

[1] 索宁宁, 张艳芳, 高圆丽, 等. 山药块茎膨大期淀粉积累及淀粉合成相关基因表达分析 [J]. 中国瓜菜, 2023, 36(3): 69-76.
Suo NN, Zhang YF, Gao YL, et al. Analysis of starch accumulation and starch synthesis-related gene expression during tuber expansion stage of yam [J]. China Cucurbits Veg, 2023, 36(3): 69-76.

[2] Tareen MBK, Saeed N, Sultan M, et al. Yam as functional food: bioactive properties, health benefits, and applications [J]. Food Nutr Health, 2025, 2: 16.

[3] Ma FY, Wang RJ, Zhang Y, et al. Polysaccharides from *Dioscorea opposita* Thunb.: isolation, structural characterization, and anti-inflammatory and anti-tumor effects against hepatocellular carcinoma [J]. Chem Biol Technol Agric, 2023, 10: 43.

[4] Sukumari Nath V, Kumar Mishra A, Kumar A, et al. Revisiting the role of transcription factors in coordinating the defense response against *Citrus bark* cracking viroid infection in commercial hop (*Humulus lupulus* L.) [J]. Viruses, 2019, 11(5): 419.

[5] Jiang JJ, Ma SH, Ye NH, et al. WRKY transcription factors in plant responses to stresses [J]. J Integr Plant Biol, 2017, 59(2): 86-101.

[6] Khoso MA, Hussain A, Ritonga FN, et al. WRKY transcription factors (TFs): Molecular switches to regulate drought, temperature, and salinity stresses in plants [J]. Front Plant Sci, 2022, 13: 1039329.

[7] Yu XQ, Niu HQ, Zhang YM, et al. Transcription factor PagWRKY33 regulates gibberellin signaling and immune receptor pathways in *Populus* [J]. Plant Physiol, 2024, 197(1): kiae593.

[8] Chen W, Huang BR. Cytokinin or ethylene regulation of heat-induced leaf senescence involving transcriptional modulation of WRKY in perennial ryegrass [J]. Physiol Plant, 2022, 174(5): e13766.

[9] Zhang F, Wang F, Yang S, et al. MdWRKY100 encodes a group I WRKY transcription factor in *Malus domestica* that positively regulates resistance to *Colletotrichum gloeosporioides* infection [J]. Plant Sci, 2019, 286: 68-77.

[10] Wang XH, Guo RR, Tu MX, et al. Ectopic expression of the wild grape WRKY transcription factor VqWRKY52 in *Arabidopsis thaliana* enhances resistance to the biotrophic pathogen powdery mildew but not to the necrotrophic pathogen *Botrytis cinerea* [J]. Front Plant Sci, 2017, 8: 97.

[11] Chinnapandi B, Bucki P, Braun Miyara S. *SlWRKY45*, nematode-responsive tomato *WRKY* gene, enhances susceptibility to the root knot nematode; *M. javanica* infection [J]. Plant Signal Behav, 2017, 12(12): e1356530.

[12] Chinnapandi B, Bucki P, Fitoussi N, et al. Tomato SlWRKY3 acts as a positive regulator for resistance against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by activating lipids and hormone-mediated defense-signaling pathways [J]. Plant Signal Behav, 2019, 14(6): 1601951.

[13] Ling J, Liu R, Hao YL, et al. Comprehensive analysis of the WRKY gene family in *Cucumis metuliferus* and their expression profile in response to an early stage of root knot nematode infection [J]. Front Plant Sci, 2023, 14: 1143171.

[14] Bredeson JV, Lyons JB, Oniyinde IO, et al. Chromosome evolution and the genetic basis of agronomically important traits in greater yam [J]. Nat Commun, 2022, 13: 2001.

[15] Finn RD, Clements J, Eddy SR. HMMER web server: interactive sequence similarity searching [J]. Nucleic Acids Res, 2011, 39 (suppl_2): W29-W37.

[16] Marchler-Bauer A, Bo Y, Han LY, et al. CDD/SPARCLE: functional classification of proteins via subfamily domain architectures [J]. Nucleic Acids Res, 2017, 45(D1): D200-D203.

[17] Zhang D, Gao FL, Jakovlić I, et al. PhyloSuite: an integrated and scalable desktop platform for streamlined molecular sequence data management and evolutionary phylogenetics studies [J]. Mol Ecol Resour, 2020, 20(1): 348-355.

[18] Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, et al. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space [J]. Syst Biol, 2012, 61(3): 539-542.

[19] Wang YP, Tang HB, DeBarry JD, et al. MCScanX: a toolkit for detection and evolutionary analysis of gene synteny and collinearity [J]. Nucleic Acids Res, 2012, 40(7): e49.

[20] Chen C, Chen H, He Y, et al. TBtools, a toolkit for biologists integrating various biological data handling tools with a user-friendly interface [PP/OL]. BioRxiv, 2018, 289660(10.1101): 289660.

[21] Bailey TL, Boden M, Buske FA, et al. MEME Suite: tools for motif discovery and searching [J]. Nucleic Acids Res, 2009, 37(suppl_2): W202-W208.

[22] Lescot M, Déhais P, Thijs G, et al. PlantCARE, a database of plant *cis*-acting regulatory elements and a portal to tools for in silico analysis of promoter sequences [J]. Nucleic Acids Res, 2002, 30 (1): 325-327.

[23] 陈芝华, 陈木兰, 李丽红, 等. 参薯'明淮1号'组培快繁技术研究 [J]. 云南农业大学学报: 自然科学, 2017, 32(3): 564-569.
Chen ZH, Chen ML, Li LH, et al. Study on rapid propagation technology of tissue culture of *Dioscorea alata* 'minghuai No.1' [J]. J Yunnan Agric Univ Nat Sci, 2017, 32(3): 564-569.

[24] Abd El-Aal EM, Shahen M, Sayed S, et al. *In vivo* and *in vitro* management of *Meloidogyne incognita* (Tylenchida: Heteroderidae) using rhizosphere bacteria, *Pseudomonas* spp. and *Serratia* spp. compared with oxamyl [J]. Saudi J Biol Sci, 2021, 28(9): 4876-4883.

[25] Zhu SR, Estévez JM, Liao HD, et al. The RALF1-FERONIA complex phosphorylates eIF4E1 to promote protein synthesis and polar root hair growth [J]. Mol Plant, 2020, 13(5): 698-716.

[26] 刘锐, 赵建龙, 谢丙炎, 等. 根结线虫诱导的巨型细胞及其形成机制 [J]. 生物技术通报, 2024, 40(3): 62-74.
Liu R, Zhao JL, Xie BY, et al. Giant cells induced by root-knot nematodes and its formation mechanisms [J]. Biotechnol Bull, 2024, 40(3): 62-74.

[27] 陈雪峰, 肖坤, 朱翔, 等. 抗南方根结线虫新疆野生樱桃李巨细胞的发育及*CCS52B*基因的作用 [J]. 园艺学报, 2015, 42(5): 843-852.
Chen XF, Xiao K, Zhu X, et al. Development of giant cells and roles of *CCS52B* gene work in *Meloidogyne incognita* resistant *Prunus sogdiana* [J]. Acta Hortic Sin, 2015, 42(5): 843-852.

[28] Xiong RQ, Peng ZH, Zhou H, et al. Correction: Genome-wide identification, structural characterization and gene expression analysis of the WRKY transcription factor family in pea (*Pisum sativum* L.) [J]. BMC Plant Biol, 2024, 24: 141.

[29] Wu X, Li N, Wang B, et al. Genome-wide identification of *WRKY* gene family and expression analysis of key *WRKY* genes in response to *Fusarium solani* infection in *Lycium barbarum* [J]. Front Plant Sci, 2025, 16: 1543373.

[30] Zheng LL, Qiu BL, Su LL, et al. *Panax notoginseng* WRKY transcription factor 9 is a positive regulator in responding to root rot pathogen *Fusarium solani* [J]. Front Plant Sci, 2022, 13: 930644.

[31] Liu DM, He J, Li Q, et al. A WRKY transcription factor confers broad-spectrum resistance to biotic stresses and yield stability in rice [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2025, 122(10): e2411164122.

[32] Wang CT, Ru JN, Liu YW, et al. The maize WRKY transcription factor ZmWRKY40 confers drought resistance in transgenic *Arabidopsis* [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(9): 2580.

[33] Huang H, Ma XC, Sun LL, et al. SlVQ15 recruits SlWRKY30IIc to link with jasmonate pathway in regulating tomato defence against root-knot nematodes [J]. Plant Biotechnol J, 2025, 23(1): 235-249.

[34] Xing LN, Zhang YF, Ge MR, et al. Identification of WRKY gene family in *Dioscorea opposita* Thunb. reveals that *DoWRKY71* enhanced the tolerance to cold and ABA stress [J]. PeerJ, 2024, 12: e17016.

[35] 周建婵. 菊叶薯蓣WRKY转录因子的克隆及功能研究 [D]. 广州: 华南农业大学, 2020.
Zhou JC. Cloning and preliminary function analysis of WRKY transcription factors in *Dioscorea composita* [D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2020.

[36] 王丽娜, 王丰青, 智惊宇, 等. 盾叶薯蓣WRKY转录因子的鉴定和生物信息学分析 [J]. 中草药, 2016, 47(22): 4062-4071.
Wang LN, Wang FQ, Zhi JY, et al. Identification and bioinformatic analysis on rhizomes of *Dioscorea zingiberensis* WRKY transcription factor [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2016, 47(22): 4062-4071.

[37] 丁夏威, 田泗, 陈健文, 等. 甘薯WRKY基因家族鉴定及其响应茎腐病侵染的表达分析 [J]. 江苏农业科学, 2024, 52(21): 25-39.
Ding XW, Tian T, Chen JW, et al. Identification of WRKY gene family and their expression analysis in response to stem rot infection in Ipomoea batatas [J]. Jiangsu Agric Sci, 2024, 52(21): 25-39.

[38] 刘欣童, 陈慧杰, 陈双双, 等. 绣球WRKY基因家族全基因组鉴定及其响应叶斑病的表达分析 [J]. 华北农学报, 2025, 40(1): 93-103.
Liu XT, Chen HJ, Chen SS, et al. Genome-wide characterization of WRKY gene family in *Hydrangea macrophylla* and expression analysis in response to leaf spot disease [J]. Acta Agric Boreali Sin, 2025, 40(1): 93-103.

[39] 张雅玲, 邓朝军, 苏文炳, 等. 枇杷WRKY基因家族鉴定及其表达分析 [J]. 福建农业学报, 2025, 40(5): 487-499.
Zhang YL, Deng CJ, Su WB, et al. Identification and expressions of WRKY family in *Eriobotrya japonica* [J]. Fujian J Agric Sci, 2025, 40(5): 487-499.

[40] 秦娟, 卢蔚雯, 李斌, 等. 红花WRKY基因家族全基因组鉴定及其表达分析 [J]. 农业生物技术学报, 2025, 33(9): 1907-1920.
Qin J, Lu WW, Li B, et al. Genome wide identification and expression analysis of the WRKY gene family in safflower (*Carthamus tinctorius*) [J]. J Agric Biotechnol, 2025, 33(9): 1907-1920.

[41] Wang QS, Wang MH, Zhang XZ, et al. WRKY gene family evolution in *Arabidopsis thaliana* [J]. Genetica, 2011, 139(8): 973-983.

[42] Lei L, Dong K, Liu SW, et al. Genome-wide identification of the WRKY gene family in blueberry (*Vaccinium* spp.) and expression analysis under abiotic stress [J]. Front Plant Sci, 2024, 15: 1447749.

[43] 李宇静, 黄倩茹, 张爱冬, 等. 茄子*SmMYB13*基因在干旱胁迫响应中的功能 [J]. 浙江农业学报, 2025, 37(8): 1666-1679.
Li YJ, Huang QR, Zhang AD, et al. Function of the *SmMYB13* gene in drought stress response in eggplant (*Solanum melongena* L.) [J]. Acta Agric Zhejiangensis, 2025, 37(8): 1666-1679.

[44] You HL, Tang D, Liu HX, et al. Chromosome ends initiate homologous chromosome pairing during rice meiosis [J]. Plant Physiol, 2024, 195(4): 2617-2634.

[45] Tang J, Wang F, Hou XL, et al. Genome-wide fractionation and identification of wrky transcription factors in Chinese cabbage (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*) reveals collinearity and their expression patterns under abiotic and biotic stresses [J]. Plant Mol Biol Rep, 2014, 32(4): 781-795.

[46] Huang H, Zhao WC, Qiao H, et al. SlWRKY45 interacts with jasmonate-ZIM domain proteins to negatively regulate defense against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in tomato [J]. Hortic Res, 2022, 9: uhac197.

[47] Liu DX, Fan JL, Ye Y, et al. The transcription factor BnaWRKY75 enhances resistance to the necrotrophic pathogen *Sclerotinia sclerotiorum* by promoting salicylic acid biosynthesis in oilseed rape [J]. J Exp Bot, 2025, 76(20): 5877-5893.

（责任编辑　朱琳峰）