基于转录组的夏枯草WRKY转录因子的鉴定和表达特征分析

朱昀昊[1,2]，陈志恒[1]，董诚明[1,2*]
（1. 河南中医药大学 药学院，郑州 450046；
2. 呼吸疾病诊疗与新药研发河南省协同创新中心，郑州 450046）

［摘要］ **目的**：利用生物信息学方法从夏枯草（*Prunella vulgaris*）转录组数据中筛选，鉴定夏枯草WRKY转录因子，并对其蛋白特征、表达水平进行分析。**方法**：从夏枯草转录组数据库中筛选WRKY转录因子，并对蛋白基序、理化性质、功能注释、系统进化、表达特性等进行分析，并预测其功能。**结果**：从夏枯草中共获得23条WRKY转录因子序列。序列结构分析发现，夏枯草WRKY蛋白均包含一个保守的WRKYGQK模块，通过与拟南芥同源蛋白进行进化分析表明，夏枯草WRKY蛋白可分为Ⅰ和Ⅱ型2种类型；Ⅰ组共有7个成员；Ⅱ组共有16个成员，Ⅱ组可进一步分为Ⅱ-b（3个），Ⅱ-c（5个），Ⅱ-d（3个）和Ⅱ-e（5个）4个亚组。夏枯草WRKY蛋白的理化特性分析结果表明，WRKY蛋白的氨基酸数在85~599个之间；相对分子质量在9 527.5~66 438.4 Da；理论等电点在5.01~9.83；其中c13719.graph_c0，c32199.graph_c0，c24547.graph_c0，c37881.graph_c0等可能在夏枯草次生代谢产物合成调控方面发挥一定的作用；c32199.graph_c0，c26537.graph_c0，c23728.graph_c0等可能在夏枯草病原菌的识别和防御中起到作用。使用夏枯草转录组数据库分析了23条WRKY转录因子在其茎、果穗、叶片的表达特性，结果表明不同组织中WRKY基因的表达水平差异显著。**结论**：该研究首次鉴定了夏枯草的WRKY转录因子家族结构特征和表达特性，为后研究讨夏枯草WRKY转录因子的功能提供了有用的信息。

［关键词］ 夏枯草；WRKY转录因子；生物信息学分析；表达谱
［中图分类号］ R22；R289；R2-031；R284.2 ［文献标识码］ A ［文章编号］ 1005-9903（2020）20-0146-07
［doi］ 10.13422/j.cnki.syfjx.20202067
［网络出版地址］ https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200730.1510.005.html
［网络出版日期］ 2020-7-30 16:55

Transcriptome-wide Identification and Expression Profiles of WRKY Transcription Factor in *Prunella vulgaris*

ZHU Yun-hao[1,2]，CHEN Zhi-heng[1]，DONG Cheng-ming[1,2*]
（1. *School of Pharmacy*，*Henan University of Chinese Medicine*，*Zhengzhou* 450046，*China*；
2. *Collaborative Innovation Center for Respiratory Disease Diagnosis and Treatment & Chinese Medicine Development of Henan Province*，*Zhengzhou* 450046，*China*）

［**Abstract**］ **Objective**：To identify WRKY genes from the transcriptome dataset of *Prunella vulgaris* by bioinformatics method，and analyze the protein characteristics and expression level of these genes. **Method**：WRKY transcription factor were identified from the *P. vulgaris* transcriptome database，their motif，physical and chemical properties，functional annotations，family evolution and expression patterns were analyzed，and their functions were predicted. **Result**：A total of 23 WRKY transcription factors were identified from *P. vulgaris* in this study by computational prediction method.Structural analysis found that WRKY proteins contained a highly conserved motif WRKYGQK. Phylogenetic analysis of WRKYs together with the homologous genes from

［收稿日期］ 20190807（009）
［基金项目］ 国家自然科学基金项目（81603232）；国家重点研发计划项目（2017YFC1702800）；河南省科技攻关计划项目（172102310539）；河南省重大科技专项（171100310500）
［第一作者］ 朱昀昊，讲师，博士，从事药用植物分子生物学研究，E-mail：guxinhan123@163.com
［通信作者］ *董诚明，教授，从事中药规范化种植研究，E-mail：dcm371@sohu.com

Arabidopsis thaliana could be divided into two groups (group Ⅰ-Ⅱ). There were 7 members in group Ⅰ, and 16 members in group Ⅱ, group Ⅱ was subdivided into five subgroups, namely group Ⅱb (3 members), Ⅱc (5 members), Ⅱd (3 members), Ⅱe (5 members). The physical and chemical properties of WRKY protein showed that the amino acid number was between 85 and 599, the molecular weight was between 9 527.5-66 438.45 Da, the theoretical isoelectric point was between 5.01-9.83. Among them, c13719.graph_c0, c32199.graph_c0, c24547.graph_c0, c37881.graph_c0 may play a role in the regulation of secondary metabolitessynthesis of *P. vulgaris*. And c32199.graph_c0, c26537.graph_c0, c23728.graph_c0 may has an effect in identifying and defensing pathogens in *P. vulgaris*. The transcriptional profiles of these 23 WRKY genes in various tissues were investigated using transcriptome dataset. The results showed that the expression level of WRKY genes varied significantly in different tissues. **Conclusion**: This study identifies the organization and transcriptional profiles of PmWRKY genes for the first time, so as to provide the helpful information for further studies of functions of WRKYs.

[**Key words**] *Prunella vulgaris*; WRKY transcription factor; bioinformatics analysis; expression profiles

转录因子是一类存在于真核生物细胞中能与基因顺式作用元件专一性结合，并通过他们之间的相互作用激活或抑制转录，从而保证目的基因表达调控的蛋白质分子[1]。WRKY转录因子是一类广泛存在于植物中的超级转录因子家族，也是近年来研究发现最大的转录因子家族之一。WRKY转录因子家族及其成员一般都具有由60个左右的氨基酸组成的WRKYGQK保守域，其近氨基端（N端）处由WRKYGQK 7个氨基酸组成的保守序列；其羧基端（C端）则含有1个由锌指蛋白结构域组成的保守区[2]。WRKY转录因子家族的下游靶标基因具有调控启动元件W-box[（T/C）TGAC（C/T）]结构，WRKY转录因子通过结合特定的W-box，调控靶标基因的表达[1-2]，从而参与植物病害[3]、干旱、高温、高盐等非生物胁迫[4-5]，萜类[6]、黄酮类[7]等次生代谢产物合成等多种生理过程。

中药夏枯草是唇形科植物夏枯草（*Prunella vulgaris*）的干燥果穗，是临床常用中药材之一，具有清热泻火、明目、散结消肿的功效[8-9]。夏枯草也常作为凉茶配料，其市场需求量大。野外生长的夏枯草受到周围环境及温度变化的影响，常受到生物或非生物胁迫，致使其产量下降。夏枯草作为临床上广泛使用的中药材，而其WRKY转录因子家族基因的研究报道还未见报道。本研究基于前期得到的夏枯草转录组数据库，对夏枯草WRKY转录因子进行筛选、鉴定和分析，为进一步探究夏枯草WRKY转录因子在次生代谢生物合成调控中的功能提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 夏枯草WRKY基因的鉴定 利用HMMER3.0软件（http://hmmer.janelia.org/），通过WRKY保守域蛋白序列号PF03106，以E≤0.01为标准在夏枯草转录组蛋白序列中筛选具有WRKY结构的全长氨基酸序列的候选基因，去除重复及冗余序列。

1.2 夏枯草WRKY蛋白序列特征分析 通过所获得的夏枯草WRKY转录因子家族候选基因ID，利用在线预测软件ORF Finder（http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/orfig.cgi）搜索获取具有全长氨基酸序列的夏枯草WRKY转录因子序列。利用在线软件ProtParam（http://web.expasy.org/protparam/）预测夏枯草WRKY蛋白的理化特征；利用在NPSA server（http://npsa-pbil. ibcp. fr/cgi-bin/npsa_automat. pl?page=npsa_sopm.html）预测二级结构。运用PSORT（http://www.genscript.com/psort.html）进行蛋白亚细胞定位预测。

1.3 夏枯草WRKY转录因子保守域鉴定与分析 利用DNAMAN5.1序列分析软件对夏枯草WRKY转录因子的WRKY结构域蛋白序列进行鉴定和分析。利用结构域预测分析软件Pfam和SMART鉴定所筛选的转录因子所含有WRKY保守结构域。

1.4 夏枯草WRKY基因家族基序分析 运用MEME（http://meme-suite.org/）对夏枯草WRKY蛋白序列进行保守结构域预测，设定Motifs最大值为10，宽度最小值为6，最大值为100，其余参数为默认值。

1.5 夏枯草WRKY基因的进化分析 从

PlantTFDB转录因子数据库(http://planttfdb.cbi.pku.edu.cn/)下载拟南芥WRKY序列。通过引入拟南芥WRKY蛋白对夏枯草WRKY蛋白进行分类,利用MEGA6.0,采用Neighbor-Joining方法构建系统进化树(Boot值为1 000,其余为默认条件)。

1.6 夏枯草WRKY转录因子表达分析 以夏枯草3个组织的转录组数据为基础,以夏枯草WRKY转录因子在果穗、茎和叶中的表达量FPKM值为依据,利用TBtools软件对夏枯草WRKY基因进行表达聚类分析。

1.7 夏枯草WRKY转录因子KEGG分析 运用在线分析软件KEGG对所筛选获得的具有全长氨基酸序列的夏枯草WRKY转录因子进行分析。

2 结果与分析

2.1 夏枯草WRKY基因序列的鉴定及结构特征 从夏枯草转录组数据库中共筛选出71个候选WRKY蛋白序列,除去重复冗余转录本序列和不完整序列,经过Pfam和SMART 2个结构域预测软件共鉴定筛选出23条候选WRKY序列。

2.2 夏枯草WRKY家族蛋白理化性质分析 夏枯草WRKY蛋白的理化特性分析结果表明,23个WRKY家族蛋白的氨基酸数在85~599个。23个WRKY家族蛋白相对分子质量在9 527.5~66 438.45 Da;理论等电点在5.01~9.83;23个WRKY蛋白中有13个WRKY蛋白的理论等电点(PI)<7,10个WRKY蛋白的PI>7,说明多数夏枯草MRKY家族蛋白表现为偏酸性。见表1。

表1 夏枯草WRKY蛋白家族理化性质

Table 1 Physicochemical properties of WRKY family proteins

基因ID	长度/bp	氨基酸数/个	相对分子质量	等电点	亚细胞定位	二级结构			
						α螺旋	β转角	延伸链	无规则卷曲
c13719.graph_c0	1 326	441	48 453.02	7.90	细胞核	20.63	8.84	21.77	48.75
c32199.graph_c0	711	236	26 888.00	6.11	细胞核	17.80	6.36	13.56	62.29
c35602.graph_c0	1 245	414	45 365.92	6.54	细胞核	15.46	9.42	23.43	51.69
c37881.graph_c0	1 800	599	66 438.45	6.95	细胞核	22.70	8.18	15.69	53.42
c39396.graph_c0	1 461	486	53 012.05	6.58	细胞核	22.43	9.05	17.9	50.62
c41028.graph_c0	1 539	512	55 224.84	8.62	细胞核	23.05	8.79	17.97	50.20
c35845.graph_c0	1 458	485	53 300.94	8.31	细胞核	27.84	6.60	17.73	47.84
c26537.graph_c0	639	212	23 160.31	5.01	细胞核	27.83	9.43	9.43	53.30
c16807.graph_c0	1 506	501	54 768.11	5.63	细胞核	38.92	6.19	12.57	42.32
c23728.graph_c0	888	295	32 737.33	7.57	细胞核	29.49	8.14	13.56	48.81
c27218.graph_c0	285	85	9 527.59	8.88	细胞外	21.18	4.71	17.65	56.47
c29443.graph_c1	714	237	26 526.46	5.94	细胞核	31.65	5.06	13.92	49.37
30404.graph_c0	1 533	510	55 671.39	5.96	细胞核	28.04	9.22	15.69	47.06
c34543.graph_c0	879	292	32 692.17	5.42	细胞核	29.45	5.14	12.67	52.74
c34908.graph_c0	792	263	28 799.82	5.53	细胞核	15.21	6.46	19.77	58.56
c38622.graph_c0	1 518	505	54 266.92	6.77	细胞核	35.84	6.93	15.64	41.58
c33295.graph_c0	1 260	419	46 002.61	5.76	细胞核	29.83	6.92	10.74	52.51
c26607.graph_c0	546	181	20 748.33	9.36	细胞核	33.15	7.73	13.81	45.30
c18177.graph_c0	531	176	20 531.16	7.77	细胞核	38.07	10.80	12.50	38.64
c24547.graph_c0	669	222	25 381.00	7.69	细胞核	13.51	10.36	29.73	46.40
c27471.graph_c0	1 038	345	37 494.63	9.83	细胞核	22.03	9.28	21.45	47.25
c33932.graph_c0	630	209	23 364.27	9.80	细胞核	19.14	6.70	20.10	54.07
c36979.graph_c0	993	330	35 940.91	9.68	细胞核	26.67	6.97	12.42	53.94

二级结构特征预测结果显示,23个夏枯草WRKY家族蛋白均由α螺旋(alpha helix),β转角(beta turn),延伸链(extended strand)和无规卷曲(random coil)4种构型组成,其中α螺旋所占比平均

值为 26.29%，β转角所占比平均值为 7.89%，延伸链所占比平均值为 17.24% 和无规卷曲所占比平均值为 52.93%，夏枯草 WRKY 家族蛋白主要由 α 螺旋和无规则卷曲组成。PSORT 预测夏枯草 WRKY 蛋白的亚细胞定位结果显示，23 个 WRKY 家族蛋白可能主要分布在细胞核。

2.3 夏枯草 WRKY 转录因子的保守域鉴定与分析　利用 DNAMAN5.1 序列分析软件对夏枯草 WRKY 转录因子的结构域蛋白序列进行鉴定和分析。结果显示，根据 WRKY 保守域可分为Ⅰ和Ⅱ型 2 种类型，Ⅰ组可进一步分为 I-N 和 I-C 亚组，Ⅰ组共有 7 个成员，其 N 端 WRKY 七肽域和锌指结构为 WRKYGQK 和 $CX_4CX_{22}HXH$ 形式，C 端 WRKY 七肽域和锌指结构是 WRKYGQK 和 $CX_4CX_{23}HXH$ 形式，其中 c32199.graph_c0 基因缺失 C’末端的锌指结构域，见图 1；Ⅱ组可进一步分为Ⅱ-b，Ⅱ-c，Ⅱ-d 和Ⅱ-e 4 个亚组，分别有 3，5，3 和 5 个成员，Ⅱ-b，Ⅱ-d 和Ⅱ-e 亚组 C 端 WRKY 七肽域和锌指结构为 WRKYGQK 和 $CX_5CX_{22}HXH$ 形式，Ⅱ-c 亚组 C 端 WRKY 七肽域和锌指结构是 WRKYGQK 和 $CX_4CX_{23}HXH$ 形式，Ⅰ型和Ⅱ型七肽域和锌指结构均没有发生变异，见图 2。

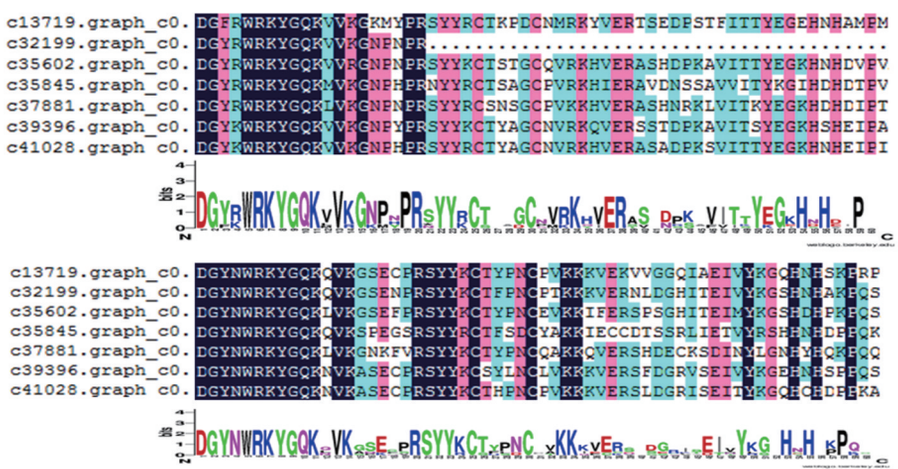

图 1　夏枯草 WRKY 蛋白家族序列比对（Ⅰ型）

Fig. 1　Sequence alignment of *P. sylvestris* WRKY protein（type Ⅰ）

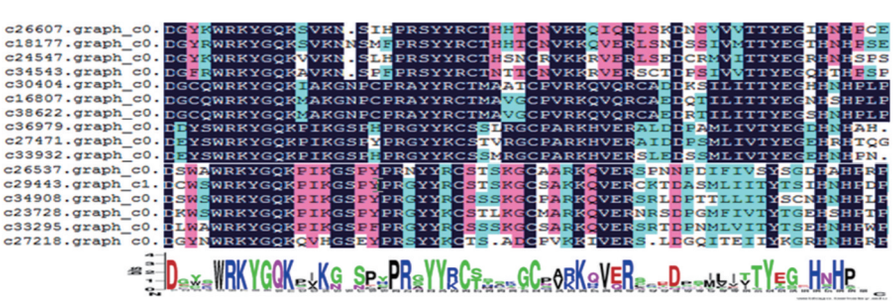

图 2　夏枯草 WRKY 蛋白家族序列比对（Ⅱ型）

Fig. 2　Sequence alignment of *P. sylvestris* WRKY protein（type Ⅱ）

2.4 夏枯草 WRKY 基因家族基序分析　利用在线软件 MEME 对夏枯草 WRKY 家族蛋白序列进行分析，结果显示，夏枯草 WRKY 基因家族包含 10 个保守元件，不同的夏枯草 WRKY 基因含有的 motif 和种类不尽相同，见图 3。对 23 个夏枯草转录因子家族蛋白上所含的 10 个基序所分布的规律分析发现，除夏枯草 c27218.graph_c0 基因编码蛋白外，其余 22 个夏枯草 WRKY 基因编码蛋白均含 motif 1；c35845. graph_c0，c37881. graph_c0，c13719. graph_c0，c32199. graph_c0，c35602. graph_c0，c27218.graph_c0，c39396.graph_c0，c41028.graph_c0 共 8 个夏枯草 WEKY 编码蛋白均含有 motif4，其中除 c27218.graph_c0 夏枯草编码蛋白只含有 motif 4 外，其余夏枯草 WRKY 编码蛋白还均含有 motif 1，motif 4。分析保守的 motif 序列特征发现，motif 1 和 motif 4 为典型的 WRKY 保守结构域基序。说明 c29443.graph_c1 等 16 个夏枯草 WRKY 基因编码蛋白为 II 型 WRKY 家族蛋白，c35845.graph_c0 等 7 个夏枯草 WRKY 基因编码蛋白为 I 型 WRKY 家族蛋白。

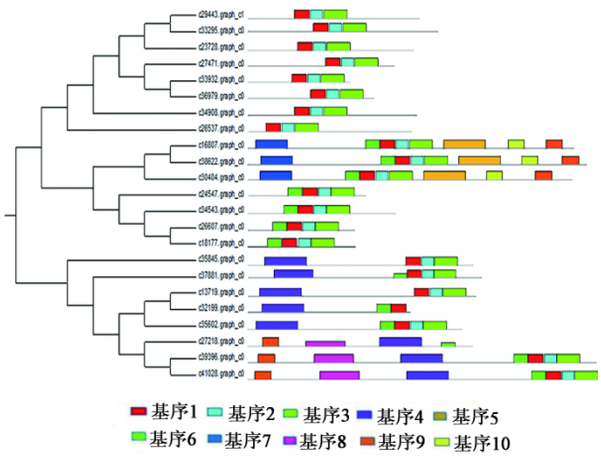

图 3　夏枯草 WRKY 转录因子基序分析

Fig. 3　Motifs analysis of *P. vulgaris* WRKY transcription factors

2.5　夏枯草 WRKY 基因的进化分析　从 PlantTFDB 数据库中下载拟南芥 56 个 WRKY 家族蛋白氨基酸序列，采用 MEGA6.0 软件对夏枯草 23 个和拟南芥 56 个（Ⅰ型蛋白 15 个，Ⅱ型蛋白 41 个）WRKY 蛋白序列，构建系统进化树。夏枯草 WRKY 蛋白可分为 2 大类，以拟南芥 WRKY 蛋白区分，可将夏枯草Ⅱ型细分为Ⅱ-b，Ⅱ-c，Ⅱ-d 和Ⅱ-e 共 4 个亚组。大部分夏枯草 WRKY 家族蛋白与拟南芥的 WRKY 蛋白聚集在不同亚组，且比较分散，说明夏枯草 WRKY 家族蛋白与拟南芥 WRKY 蛋白具有比较高的保守性。与拟南芥相同亚组的夏枯草 WRKY 蛋白之间具有较高的同源性，可能具有与拟南芥 WRKY 蛋白相似的生物学功能。见图 4，5。

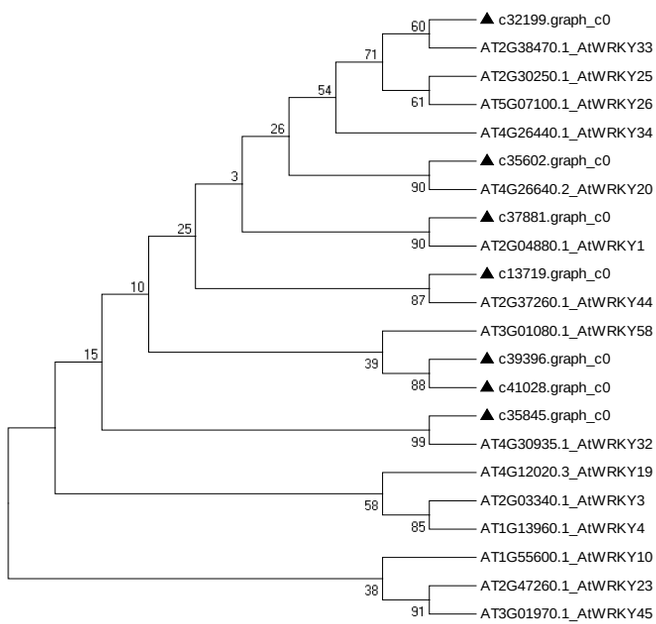

图 4　夏枯草 WRKY 家族蛋白与拟南芥 WRKY 家族蛋白进化树（Ⅰ型）

Fig. 4　Phylogenetic analysis of WRKY protein in *P. vulgaris* and *Arabidopsis thaliana*（type Ⅰ）

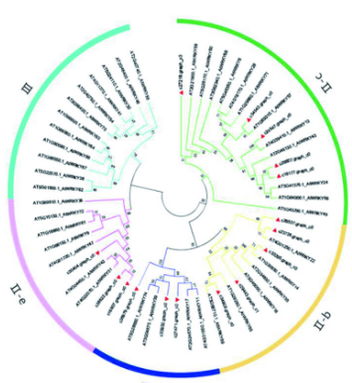

图 5　夏枯草 WRKY 家族蛋白与拟南芥 WRKY 家族蛋白进化树（Ⅱ型Ⅲ型）

Fig. 5　Phylogenetic analysis of WRKY protein in *P. vulgaris* and *Arabidopsis thaliana*（type Ⅱ type Ⅲ）

通过对夏枯草 23 个 WRKY 蛋白在 Blast 中进行序列比对和同源预测分析，发现夏枯草 c13719.graph_c0，c32199.graph_c0，c24547.graph_c0，c37881.graph_c 分别于拟南芥 AtWRKY44，AtWRKY33，AtWRKY13 和 AtWRKY1 相似性最高。其中拟南芥 AtWRKY44 可以调控种皮中单宁酸的合成[10]；拟南芥 AtWRKY33 通过信号转导机制，促使亚麻芥素的产生[11]；拟南芥 AtWRKY13 可以激活木质素生物合成过程中多种关键酶基因的表达，从而正调控木质素的生物合成[12]；AtWRKY1 在罂粟中过表达可使二甲基吗啡（thebaine）量提高 5 倍[13]。因此，笔者推测，夏枯草 c13719.graph_c0，c32199.graph_c0，c24547.graph_c0，c37881.graph_c0

等基因编码蛋白可能在夏枯草次生代谢产物生物合成上发挥一定的调控作用。见表 2。

表 2　夏枯草 WRKY 家族生物功能预测

Table 2　Prediction of biological function of *P. vulgaris* WRKY family

基因 ID	拟南芥同源基因	相似度/%	BLAST 得分最高基因 ID	相似度/%	物种	生物功能
c13719.graph_c0	AtWRKY44	87	AKA27921.1	72	丹参	1. 调控种皮中单宁酸的合成；2. 抗病原菌及激素胁迫应答反应
c32199.graph_c0	AtWRKY33	60	XP_011077504.1	66	芝麻	1. 调控亚麻芥素的产生；2. 热诱导及耐热胁迫
c24547.graph_c0	AtWRKY13	99	AKA27886.1	87	丹参	1. 植物抗病；2. 调控茎中木质素的生物合成
c37881.graph_c0	AtWRKY1	90	AKA27878.1	79	丹参	调控病程相关基因及次生代谢

2.6　夏枯草 WRKY 基因 KEGG 分析　对夏枯草 WRKY 转录因子进行 KEGG 分析发现，WRKY 转录因子可能参与了植物 MAPK 信号和植物-病原体相互作用两条代谢通路。植物在受到病原体感染后，一部分通过 MAPK 级联反应信号通路激活 WRKY33 转录因子的表达[14]；另一部分通过 MAPK 级联反应信号通路激活 WRKY22，WRKY29 转录因子的表达，进而使下游基因参与调控病原体的早期防御反应[15-17]；植物在受到病原体攻击后，通过 MAPK 级联反应信号通路激活 WRKY29，WRKY25 转录因子的表达，进而参与调控细胞程序化死亡。植物在受到 Ca^{2+}，flg22，elf18 等作用时，WRKY25，WRKY33 和 WRKY22，WRKY29 共同参与防御相关基因的诱导过程[18-19]。夏枯草 c32199.graph_c0，c26537. graph_c0，c23728. graph_c0 分别于拟南芥 AtWRKY33，AtWRKY22 相似性较高因此，推测 c32199.graph_c0，c26537.graph_c0，c23728.graph_c0 等基因编码蛋白可能在夏枯草病原菌的识别和防御中起到重要作用。

2.7　夏枯草 WRKY 基因表达分析　选用 TBtools 软件绘制夏枯草 WRKY 转录因子在果穗、茎和叶中的基因表达量热图。聚类分析表明，夏枯草 WRKY 转录因子在 3 种组织之间，果穗和叶的关系较近，与茎则较远，见图 6。夏枯 WRKY 转录因子各组织表达量聚类为 3 大类，其中 c33295.graph_c0，c18177. graph_c0，c26607.graph_c0 共 3 个夏枯草 WRKY 转录因子基因在在果穗中表达最低，茎中最高；c30404. graph_c0，c27218. graph_c0，c26537. graph_c0，c24547.graph_c0 共 4 个夏枯草 WRKY 转录因子基因在茎中最低，在果穗和叶中较高。根据表达模式分析：夏枯草 WRKY 转录因子在其茎、果穗、叶片等组织部位的表达量表现出明显的组织特异性。

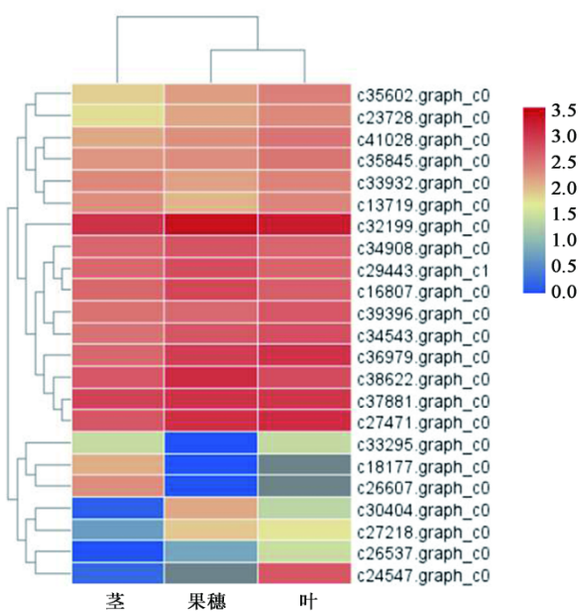

图 6　夏枯草 WRKY 转录因子基因表达热图

Fig. 6　Gene expression heatmap of *P. vulgaris* WRKY transcription factors

3　讨论

夏枯草作为常用的中药材，其含有的三萜类、酚酸类及黄酮类等有效成分均属次生代谢产物，药理作用广泛，市场需求量大。但是由于人工种植夏枯草的技术还不够完善，其野生型占比较大。然而，其野外生长不仅受到病虫害、病毒感染等生物胁迫，而且受到高盐、高热、干旱等非生物胁迫的影响，导致其产量较低。近年来，随着研究的不断深入，目前关于 WRKY 转录因子在植物生物胁迫以及非生物胁迫方面的作用已取得阶段性的进展。但有关夏枯草 WRKY 转录因子家族的生物学功能及其对次生代谢调控机制方面的研究还未见报道。本研究通过挖掘前期夏枯草转录组数据库，获得了 23 条夏枯草 WRKY 基因，并对其编码蛋白进行了理化性质预测、基序分析、序列比对和进化分析等，并结合文献分析了其同源类比模式生物拟南芥

WRKY基因的功能，发现夏枯草c13719.graph_c0，c32199.graph_c0，c24547.graph_c0，c37881.graph_c0等WRKY转录因子可能在调控其次生代谢产物合成方面发挥一定的作用；c32199.graph_c0，c26537.graph_c0，c23728.graph_c0等基因编码蛋白可能在夏枯草病原菌的识别和防御中起到重要作用，这进一步探索夏枯草WRKY转录因子家族基因的功能奠定基础，也为夏枯草的人工种植及生长条件的改善提供了一定的理论基础。但是，由于WRKY转录因子家族较为庞大，本研究所用夏枯草转录组数据库仅包含了茎、果穗和叶片三个组织，生长时期覆盖面也较低，以及第二代测序技术的读长段，拼接错误率高等固有缺陷，因此不能挖掘出全部的夏枯草WRKY转录因子，也有较多注释为WRKY基因的unigene仅为部分序列。在后续的研究中，可以采用PacBio、nanopore等更为先进的技术构建更为完善的转录组数据库或基因组数据库。

［参考文献］

［1］ 梁滨，董冬. 植物WRKY转录因子的研究进展[J]. 生物学通报，2018，53(6)：5-8.

［2］ 颜君，郭兴启，曹学成. WRKY转录因子的基因组水平研究现状[J]. 生物技术通报，2015，31(11)：9-17.

［3］ 王磊，高晓清，朱苓华，等. 植物WRKY转录因子家族基因抗病相关功能的研究进展[J]. 植物遗传资源学报，2011，12(1)：80-85.

［4］ 孙淑豪，余迪求. WRKY转录因子家族调控植物逆境胁迫响应[J]. 生物技术通报，2016，32(10)：66-76.

［5］ 李冉，娄永根. 植物中逆境反应相关的WRKY转录因子研究进展[J]. 生态学报，2011，31(11)：3223-3231.

［6］ MA D M，PU G B，LEI C Y，et al. Isolation andcharacterization of AaWRKY1，an *Artemisia annua* transcriptionfactor that regulates the amorpha-4，11-diene synthase gene，akey gene of Artemisinin biosynthesis[J]. Plant Cell Physiol，2009，50(12)：2146-2161.

［7］ GRUNEWALD W，SMET I D，LEWIS D R，et al. Transcription factor WRKY23 assists auxin distribution patterns during Arabidopsisroot development through local control on flavonol biosynthesis[J]. Proc Natl Acad Sci USA，2012，109(5)：1554-1559.

［8］ 李芳，林丽美，李春. 夏枯草化学成分研究概况[J]. 中国实验方剂学杂志，2011，17(24)：270-273.

［9］ 陈廷贵，李利亚，魏煜如，等. 夏枯草中胰脂肪酶抑制剂的筛选、鉴定与活性评价[J]. 中国中药杂志，2018，43(23)：4665-4671.

［10］ MAO G，MENG X，LIU Y，et al. Phosphorylation of a WRKY transcription factor by two pathogen-responsive MAPKs drives phytoalexin biosynthesis in *Arabidopsis*[J]. Plant Cell，2011，23(4)：1639-1653.

［11］ LI W，TIAN Z，YU D. WRKY13 acts in stem development in *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant Sci，2015，236：205-213.

［12］ APUYA N R，PARK J H，ZHANG L，et al. Enhancement of alkaloid production in opium and California poppy by transactivation using heterologous regulatory factors[J]. Plant Biotechnol J，2008，6(2)：160-175

［13］ ZHENG Z，QAMAR S A，CHEN Z，et al. *Arabidopsis* WRKY33 transcription factor is required for resistance to necrotrophic fungal pathogens[J]. Plant J，2006，48(4)：592-605.

［14］ ASAI T，TENA G，PLOTNIKOVA J，et al. MAP kinase signalling cascade in *Arabidopsis* innate immunity[J]. Nature，2002，415(6875)：977-983.

［15］ ZHOU X，JIANG Y，YU D. WRKY22 transcription factor mediates dark-induced leaf senescence in *Arabidopsis*[J]. Mol Cells，2011，31(4)：303-313.

［16］ PATHAK R K，GIRI P，TAJ G，et al. Molecular modeling and docking approach to predict the potential interacting partners involved in various biological processes of MAPK with downstream WRKY transcription factor family in *Arabidopsis thaliana*[J]. Int J Comput Bioinf Silico Model，2013，2：262-268.

［17］ ZHANG J，SHAO F，LI Y，et al. A Pseudomonas syringae effector inactivates MAPKs to suppress PAMP-induced immunity in plants[J]. Cell Host Microbe，2007，1(3)：175-185.

［18］ SCHWESSINGER B，ZIPFEL C. News from the frontline：recent insights into PAMP-triggered immunity in plants[J]. Curr Opin Plant Biol，2008，11(4)：389-395.

［19］ LI B，MENG X，SHAN L，et al. Transcriptional regulation of pattern-triggered immunity in plants[J]. Cell Host Microbe，2016，19(5)：641-650.

［责任编辑 顾雪竹］