

禹氏三角物种 *WRKY18* 基因家族的全基因组鉴定、进化特征及表达分析

钟 玲, 吴文静, 谢成建, 陆俊杏*

重庆师范大学生命科学学院, 植物环境适应生物学重庆市重点实验室, 重庆

收稿日期: 2026年4月27日; 录用日期: 2026年7月15日; 发布日期: 2026年7月28日

摘 要

WRKY18 转录因子在植物生长发育及逆境响应中发挥重要调控作用。禹氏三角物种为研究基因家族的进化规律提供了材料。本研究采用生物信息学方法, 对禹氏三角物种中的 *WRKY18* 基因家族进行全基因组鉴定, 并结合系统发育、基因结构、蛋白特性、保守基序及转录组数据, 分析其进化特征与表达模式。结果表明, 在二倍体基本种白菜、甘蓝、黑芥中分别鉴定出3个 *WRKY18* 基因, 在四倍体复合种芥菜型油菜、甘蓝型油菜中鉴定出6个基因, 而在埃塞俄比亚芥中仅鉴定出5个, 基因数量变化符合禹氏三角的杂交与多倍化规律, 并存在多倍体化后的基因丢失现象。系统发育与结构分析显示, 26个 *WRKY18* 可分为三组, 其 *WRKY* 结构域均由两个外显子编码且高度保守。保守基序分析显示, 各成员均包含核心基序, 但种内基序组成的差异暗示了功能上的潜在分化。转录组表达分析发现, 甘蓝型油菜 *WRKY18* 基因在核盘菌胁迫下呈现复杂的时序性表达差异, 且抗病品系中的诱导强度普遍高于感病品系。本研究揭示了 *WRKY18* 基因家族在芸薹属多倍体进化过程中的保留、扩张与丢失规律, 证实其成员在生物胁迫响应中具有时序协同与功能分化特征, 为芸薹属作物抗逆遗传改良提供了重要的基因资源与理论依据。

关键词

禹氏三角, *WRKY18*, 基因家族鉴定, 进化分析, 生物胁迫, 表达分析

Genome-Wide Identification, Evolutionary Characteristics, and Expression Analysis of the *WRKY18* Gene Family in U's Triangle Species

Ling Zhong, Wenjing Wu, Chengjian Xie, Junxing Lu*

Chongqing Key Laboratory of Plant Environmental Adaptation Biology, College of Life Sciences, Chongqing Normal University, Chongqing

*通讯作者。

文章引用: 钟玲, 吴文静, 谢成建, 陆俊杏. 禹氏三角物种 *WRKY18* 基因家族的全基因组鉴定、进化特征及表达分析[J]. 植物学研究, 2026, 15(4): 266-279. DOI: 10.12677/br.2026.154031

Received: April 27, 2026; accepted: July 15, 2026; published: July 28, 2026

Abstract

The *WRKY18* transcription factor plays an important regulatory role in plant growth, development, and stress responses. The species of U's triangle provide a model for studying the evolutionary patterns of gene families. In this study, we performed a genome-wide identification of the *WRKY18* gene family across U's triangle species using bioinformatics approaches. Their evolutionary characteristics and expression patterns were analyzed by integrating phylogenetic, gene structure, protein property, conserved motif, and transcriptomic data. The results showed that three *WRKY18* genes were identified in each of the diploid foundational species (*B. rapa*, *B. oleracea*, *B. nigra*), six genes were identified in the tetraploid complex species *B. napus* and *B. juncea*, while only five were identified in *B. carinata*. This variation in gene number aligns with the hybridization and polyploidization patterns of U's triangle, with evidence of gene loss following polyploidization. Phylogenetic and structural analyses revealed that the 26 *WRKY18* members could be divided into three groups, with the WRKY domain being encoded by two exons and highly conserved. Conserved motif analysis showed that all members contained the core motif; however, differences in intra-species motif composition suggested potential functional differentiation. Transcriptomic expression analysis revealed that *WRKY18* members in *B. napus* exhibited complex temporal expression patterns under *Sclerotinia sclerotiorum* stress, with induction levels generally higher in resistant lines than in susceptible lines. This study reveals the retention, expansion, and loss patterns of the *WRKY18* gene family during the polyploidization of Brassica species, confirms the temporal coordination and functional differentiation of its members in response to biotic stress, and provides important genetic resources and a theoretical basis for stress resistance breeding in Brassica crops.

Keywords

U's Triangle, *WRKY18*, Gene Family Identification, Evolutionary Analysis, Biotic Stress, Expression Analysis

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

WRKY 蛋白是一种重要并存在于整个植物进化过程中的转录因子家族, 在其 N 端具有高度保守的 WRKYGQK 氨基酸序列和一个锌指结构的 WRKY 结构域, 能特异结合((T)(T)TGAC(C/T)) DNA 序列(后被称为 W 盒) [1] [2]。研究表明, 植物的多种生理生化过程均需要 WRKY 家族参与, 其中包括种子萌发、形态建成、发育、代谢调控和衰老调控等 [3]。WRKY 蛋白在拟南芥防卫反应中起着重要的作用, 在不同程度上多种生物和非生物胁迫因子均能诱导拟南芥 *WRKY* 基因的表达, 并且在不同的非生物胁迫方面不同的 WRKY 蛋白表现出功能的多样性, 当植物受到各种非生物因素影响时, 不同的非生物胁迫下 *WRKY* 基因可以参与调控信号处理和转录的重新编程 [4]。已有研究表明, 在根的生长过程和种子萌发抑制方面, *AtWRKY18* 与 *AtWRKY60* 基因均对其具有正调控作用, 并且植株对 ABA 敏感性与这些过程相关, 植物在生长发育过程中对脱落酸和非生物胁迫因子进行响应时, *AtWRKY40* 基因与 *AtWRKYA18* 和 *AtWRKY60* 基因对其的作用相互拮抗 [5]。也就是说, 在种子萌发及发育阶段, *AtWRKY40* 基因对脱落酸进行负调控,

AtWRKY18 和 *AtWRKY60* 基因对脱落酸进行正调控, 并且能迅速诱导 *AtWRKY18* 和 *AtWRKY40* 基因, 而诱导 *AtWRKY60* 基因则较为缓慢, 还发现 *AtWRKY40* 和 *AtWRKY18* 能通过识别 *AtWRKY60* 启动子来调节 *AtWRKY60* 基因的表达[6]。此外, *AtWRKY33* 参与植物对坏死营养病原体的抗性[7], 油菜中过表达 *AtWRKY33* 同源物 *BnWRKY33* 增强了油菜对菌核链球菌的抗性[8]。研究发现, 百合 *LrWRKY4* 和 *LrWRKY12* 在拟南芥中的组成型表达可增强植株对灰霉的抗性[9]。由此也可见, WRKY 转录因子在植物免疫反应中起着重要作用。

在芸薹属中 *WRKY18* 家族经历了更为复杂的演化历史。芸薹属祖先经历了两轮全基因组三倍化[10], 并形成了禹氏三角模型中三个二倍体基本种。禹氏三角是 1935 年韩国研究者禹长春提出基于细胞生物学证据提出的芸薹属植物种间杂交关系模型。该模型以白菜(*Brassica rapa*, AA, n = 10)、黑芥(*Brassica nigra*, BB, n = 8)、甘蓝(*Brassica oleracea*, CC, n = 9)三个芸薹属二倍体物种为基本种, 揭示了通过自然杂交形成芥菜型油菜(*Brassica juncea*, AABB, n = 18)、甘蓝型油菜(*Brassica napus*, AACC, n = 19)、埃塞俄比亚芥(*Brassica carinata*, BBCC, n = 19)芸薹属四倍体复合种的遗传规律, 该模型为油菜抗逆育种和植物多倍化研究提供了基础框架。大约 1800 万年前, 拟南芥和芸薹属祖先至少经历了两次不同的复制[11], 形成了现在的拟南芥和芸薹属的祖先物种; 然后在 1400 万年前, 芸薹属祖先完整的基因组序列有一次三倍化的扩张现象[12] [13], 并于 400 万年前进一步分化而形成了现在的二倍体物种甘蓝和白菜; 在 1 万年前左右, 二倍体物种甘蓝和白菜杂交形成了甘蓝型油菜这一四倍体物种[14], 揭示了属内异源多倍体与祖先二倍体亲缘关系, 得到广泛认可。但禹氏三角物种在 *WRKY18* 基因家族中的多倍化和杂交过程中, 这些多拷贝基因是共同保留了原始的防御功能, 还是通过顺式元件的重塑实现了新功能化。目前针对禹氏三角六个物种中 *WRKY18* 家族的系统分子演化研究尚属空白。且芸薹属的起源与进化的相关研究虽然在禹氏三角物种(白菜、黑芥、甘蓝、芥菜型油菜、甘蓝型油菜、埃塞俄比亚芥)全基因组测序工作完成条件下取得了进展, 但同时禹氏三角六个物种功能基因家族研究方面却鲜有报道。而其独特的亲缘关系对 *WRKY18* 基因家族的分子进化研究提供了很好的材料。

本研究用生物信息学的方法, 以模式植物拟南芥为参考, 利用禹氏三角物种的全基因组序列数据, 鉴定 *WRKY18* 基因家族的全部成员, 试图探讨经基因组的三倍化扩张, 分化以及芸薹属基本种杂交形成四倍体复合种后, *WRKY18* 基因家族的丢失、保留及扩张情况。在此基础上, 我们进一步分析该家族成员的基因结构、保守基序、启动子顺式作用元件及共线性关系, 以揭示其维持核心功能与产生适应性分化的分子机制。同时, 利用转录组数据, 调查甘蓝型油菜 *WRKY18* 基因的组织特异性和生物胁迫下诱导特性, 为下一步研究 *WRKY18* 基因功能提供参考。

2. 材料与方法

2.1. 材料

从 TAIR 数据库(<https://www.arabidopsis.org>)下载拟南芥的基因组序列; 白菜、甘蓝、黑芥、甘蓝型油菜、芥菜型油菜的基因组序列下载于 BRAD 数据库(<http://brassicadb.org/brad/>), 埃塞俄比亚芥的基因组序列来自 Song 等[15]发表的文章。

2.2. 禹氏三角物种 *WRKY18* 家族基因序列获取

使用 TBtools [16]提取芸薹属六个物种的 CDS 和蛋白序列, 以拟南芥 *AtWRKY18* 蛋白序列为探针, 与禹氏三角物种的蛋白数据库进行 BLASTP 比对, 筛选并删除重复序列后, 将蛋白序列上传至 NCBI 网站进行反向 BLAST, 去除冗余得到 *WRKY18* 基因家族候选蛋白集合 1。在 pfam 数据库通过 *WRKY18* 基因家族的 pfam ID (PF03106)下载 hmm 模型文件, 随后在 TBtools 中采用 HMM 搜索获取候选蛋白集合

2. 取蛋白集合 1 和集合 2 的交集, 获得禹氏三角物种的 *WRKY18* 基因家族候选蛋白。将候选蛋白序列提交至 NCBI CD Search 进行保守结构域分析, 再结合保守基序、进化树等, 去除错误基因, 修正异常基因, 最终确定禹氏三角物种 *WRKY18* 家族的全部成员。

2.3. *WRKY18* 基因家族系统发育及基因结构分析

采用 Clustal W 进行多序列比对, 应用 MEGA12.1, 采用 NJ 法构建系统发育树, Bootstrap 参数选择 1000。根据基因组注释信息, 使用 TBtools 将禹氏三角物种 *WRKY18* 基因家族的基因结构可视化。利用在线工具 NCBI CD Search 快速寻找 *WRKY18* 基因家族各成员的结构域, 然后 TBtools 进行可视化。

2.4. *WRKY18* 家族蛋白特性分析

利用在线工具 ProtParam (<http://web.expasy.org/protparam/>) 预测禹氏三角物种 *WRKY18* 基因家族各成员的氨基酸数(Number of amino acid)、氨基酸组成(Amino acid composition)、磷酸化位点(Phosphorylation sites)。

2.5. *WRKY18* 基因家族保守基序分析

禹氏三角物种 *WRKY18* 基因家族成员的蛋白质序列上传到 MEME 网站 (<http://meme.nbcr.net/meme/cgi-bin/meme.cgi>), 进行保守基序预测, 预测数量设为 10 个, 预测结果利用 TBtools 进行可视化。

2.6. *WRKY18* 基因家族顺式元件和共线性分析

禹氏三角物种 *WRKY18* 基因家族成员的启动子序列提交到 PlantCare 网站 (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 进行顺式作用元件预测, 使用 TBtools 对顺式作用元件进行可视化。利用软件 MCScanX 进行共线性分析, 通过 TBtools 软件可视化共线性模块。

2.7. *WRKY18* 基因家族的生物胁迫诱导特性和组织特异性表达分析

下载公开发表的甘蓝型油菜、白菜、甘蓝接种核盘菌或根肿菌后的转录组数据, 以及组织器官根、茎、叶、荚果皮、花、愈伤组织等的转录组数据, 使用 TBtools 软件分析这三个物种的转录组数据, 获得其 TPM 值, 并利用 TBtools 的 Heatmap 工具对这三个物种的 *WRKY18* 基因家族所有成员的表达量进行可视化。

3. 结果与分析

3.1. 禹氏三角物种 *WRKY18* 基因家族的鉴定

利用数据库 TAIR 和 BARD 在禹氏三角物种的全基因组数据, 鉴定出禹氏三角物种 *WRKY18* 基因家族全部成员(表 1)。在三个基本种白菜、黑芥、甘蓝分别鉴定出 3 个 *WRKY18* 基因, 较拟南芥中的 1 个(*AtWRKY18*) 基因呈现基因家族扩张。在禹氏三角的四倍体复合种芥菜型油菜、甘蓝型油菜、埃塞俄比亚芥中分别鉴定出 6、6、5 个的 *WRKY18* 基因。四倍体复合种中的 *WRKY18* 基因数量基本为二倍体基本种中的两倍, 也符合二倍体基本种通过自然杂交形成四倍体复合种的规律。其中埃塞俄比亚芥的 *WRKY18* 数量为 5 个, 低于理论值 6 个, 可能是黑芥和甘蓝杂交形成埃塞俄比亚芥后由于基因的重排中造成基因丢失。

3.2. *WRKY18* 家族基因结构及系统发育分析

为了考察禹氏三角物种 *WRKY18* 家族各成员的进化关系, 构建了系统发育树(图 1), 禹氏三角物种 *WRKY18* 家族分为三组(I, II, III), 每组的基因数量分别为 10、9、7 个。三个基本种白菜、黑芥、甘蓝的

基因分别平均分布在I、II、III组中，四倍体复合种芥菜型油菜的基因分别平均分布在I、II、III组中，而甘蓝型油菜的基因在I组中有三个，II组中有两个，而III组中只有一个，埃塞俄比亚芥在I和II组中分别有两个基因，III组中则只有一个基因。在基因结构方面，I组的基因结构相似，基因长度接近，外显子数量主要为5个，但 *BnaWRKY18.2* 具有6个外显子，而 *BcaWRKY18.2*、*BjuWRKY18.2*、*BniWRKY18.1* 仅有4个外显子。II组的基因结构相似，均为5个外显子，但基因长度差异较大，其中 *BjuWRKY18.3* 和 *BcaWRKY18.3* 的基因长度明显大于组内的其它基因。II组多数基因具有4个外显子，但 *BcaWRKY18.5* 具有5个外显子，而 *BniWRKY18.3* 具有7个外显子，且长度明显大于其它基因。禹氏三角物种 *WRKY18* 家族的 *WRKY* 结构域均由两个外显子编码，且均靠近C端，体现其重要性和进化保守性。

Table 1. The *WRKY18* genes in Species of U's triangle
表 1. 禹氏三角物种 *WRKY18* 基因

物种 Species	基因名称 Gene name	登录号 Accession number	基因数量 Gene number
白菜 <i>Brassica rapa</i>	<i>BraWRKY18.1</i>	A01p06380.2_BraZ1	3
	<i>BraWRKY18.2</i>	A08p20630.2_BraZ1	
	<i>BraWRKY18.3</i>	A03p62180.2_BraZ1	
黑芥 <i>Brassica nigra</i>	<i>BniWRKY18.1</i>	BniB05g006200.2N.1	3
	<i>BniWRKY18.2</i>	BniB03g010220.2N.1	
	<i>BniWRKY18.3</i>	BniB02g085540.2N.1	
甘蓝 <i>Brassica oleracea</i>	<i>BolWRKY18.1</i>	BolC01g007240.2J.m1	3
	<i>BolWRKY18.2</i>	BolC03g081360.2J.m1	
	<i>BolWRKY18.3</i>	BolC07g056170.2J.m1	
芥菜型油菜 <i>Brassica juncea</i>	<i>BjuWRKY18.1</i>	BjuVA01G06420.1	6
	<i>BjuWRKY18.2</i>	BjuVB05G06170.1	
	<i>BjuWRKY18.3</i>	BjuVB03G09910.1	
	<i>BjuWRKY18.4</i>	BjuVA08G18640.1	
	<i>BjuWRKY18.5</i>	BjuVB02G71840.1	
	<i>BjuWRKY18.6</i>	BjuVA03G59870.1	
甘蓝型油菜 <i>Brassica napus</i>	<i>BnaWRKY18.1</i>	BnA03g0102970.1	6
	<i>BnaWRKY18.2</i>	BnA01g0007040.1	
	<i>BnaWRKY18.3</i>	BnC02g0493760.1	
	<i>BnaWRKY18.4</i>	BnA08g0318320.1	
	<i>BnaWRKY18.5</i>	BnC03g0613120.1	
	<i>BnaWRKY18.6</i>	BnA03g0154140.1	
埃塞俄比亚芥 <i>Brassica carinata</i>	<i>BcaWRKY18.1</i>	BcaC09g51972	5
	<i>BcaWRKY18.2</i>	BcaNung05186	
	<i>BcaWRKY18.3</i>	BcaB03g12719	
	<i>BcaWRKY18.4</i>	BcaC01g01058	
	<i>BcaWRKY18.5</i>	BcaNung01498	
拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>	<i>AtWRKY18.1</i>	AT4G31800.1	1

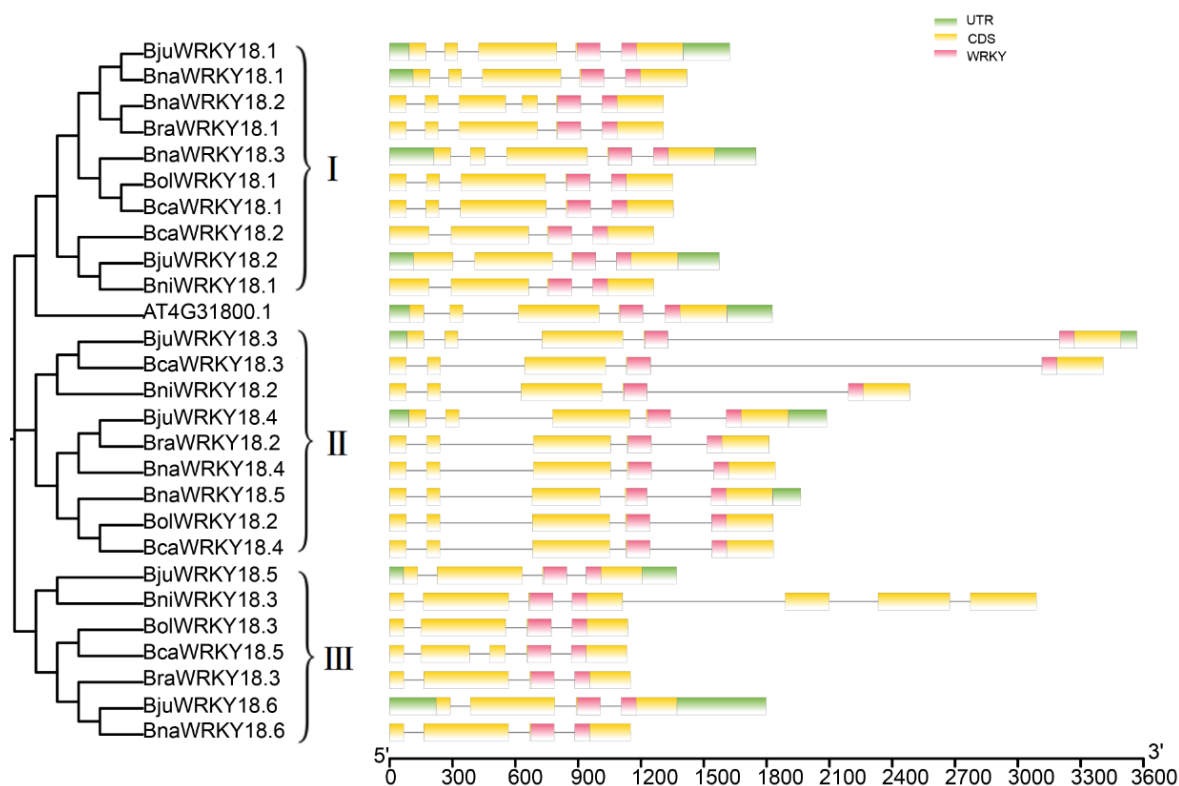


Figure 1. Phylogenetic tree and genetic structure of *WRKY18* in U's triangle species

图 1. 禹氏三角物种 *WRKY18* 家族的基因结构和系统发育树

3.3. *WRKY18* 基因家族保守基序分析

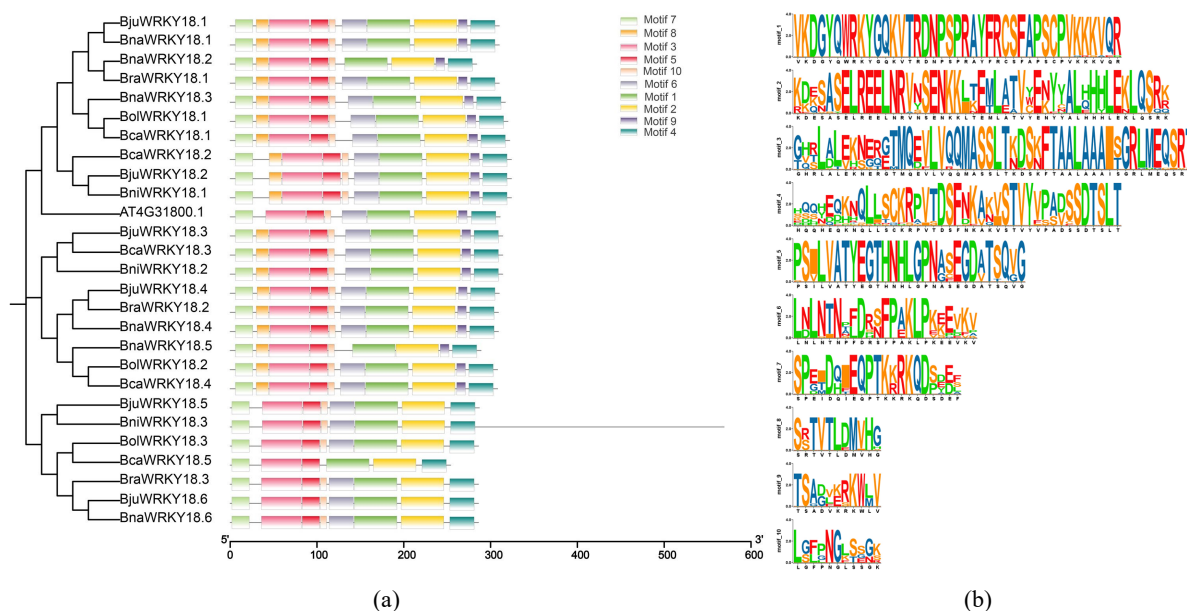


Figure 2. Motif sequences and distribution of the *WRKY18* family in U's triangle species. (a) Motifs of the *WRKY18* protein in U's triangle species. Colored boxes represent motifs 1-10. (b) Amino acid sequences of motifs 1-10

图 2. 禹氏三角物种 *WRKY18* 家族 motif 序列以及分布。(a) 禹氏三角物种 *WRKY18* 蛋白基序。不同颜色的方框表示基序 1-10。(b) 基序 1-10 的氨基酸序列

转录因子在基因转录的启动和调节中起关键作用[17], WRKY 是转录因子的超家族, 在拟南芥中有高达 100 个基因, 参与各种生理程序的调节[18]。同时, 它也是调控植物中许多生物信号网络的组成部分[19]。WRKY 蛋白通过与目标基因启动子区的顺式 DNA 元素 W-BOX 结合, 正负调控基因表达, 影响不同的发育程序[20] [21]。WRKY 转录因子已被证实广泛参与植物对不同生物、非生物和激素信号反应的多种途径, 从而影响植物的生长和发育[22]。禹氏三角物种 *WRKY18* 家族每个成员均含有 WRKY 结构域(图 2(a))。用 MEME 对 6 个芸薹属物种 *WRKY18* 进行 motif 分析发现(图 2(b)), *WRKY18* 在进化过程中比较保守, 所有的 *WRKY18* 都含有 motif 1-5, 说明这些序列在 *WRKY18* 进化过程中发挥重要作用。从种内角度看, 同一物种内的 *WRKY18* 蛋白所含 motif 的种类或数量存在一定的差异。如白菜中, BraWRKY18.1 和 BraWRKY18.2 均含 10 个 motif 且排列顺序相同, 而 BraWRKY18.3 仅含 8 个 motif。由此推测, 禹氏三角物种内 *WRKY18* 在功能上可能已发生分化。

3.4. *WRKY18* 基因家族顺式作用元件分析

顺式作用元件是启动子及上游调控区的保守短序列, 可特异性结合转录因子调控基因转录, 在激素信号转导、生物与非生物胁迫应答中发挥关键作用。通过系统鉴定 *WRKY18* 家族成员中启动子区顺式作用元件, 共识别到八类主要与激素及胁迫响应相关的元件(图 3)。*WRKY18* 基因启动子区域全部顺式作用元件按分布频率来看脱落酸响应元件和茉莉酸甲酯响应元件的分布最广泛, 存在于所有 *WRKY18* 基因家族成员启动子中, 体现了脱落酸信号调控与茉莉酸甲酯信号调控在 *WRKY18* 基因家族中的普遍性和基础性。从启动子元件种类多样性来看, *WRKY18* 家族分支 I 成员的启动子元件种类最为多样, 与其它两个分支相比还分布有干旱诱导、赤霉素响应及生长素响应元件。*WRKY18* 家族分支 II 成员的元件组成相对保守, 以水杨酸、茉莉酸甲酯和脱落酸响应元件为主。*WRKY18* 家族分支 III 成员的启动子元件相比较于其他两个分支成员响应元件数量较少。在顺式元件的位置排列分布方面, 同一分支内的成员在启动子顺式作用元件的类型、数量及分布位置上呈现出高度的相似性, 不同分支间则存在显著差异, 与进化树的聚类结果高度吻合。分支 I 中成员 *BcaWRKY18.2*、*BjuWRKY18.2* 和 *BniWRKY18.1* 元件分布呈现出高度的一致性, 均含有脱落酸响应元件、茉莉酸甲酯响应元件、水杨酸响应元件, 且元件的数量、出现区间高度相似, 表明分支 I 成员在进化中保留了相似的转录调控模式。在分支 II 成员中, *BjuWRKY18.3*、*BcaWRKY18.3* 和 *BniWRKY18.2* 其元件相似性表现为高度同质化、元件的数量、分布区间几乎完全一致。在分支 III 成员中 *BnaWRKY18.3*、*BjuWRKY18.6* 和 *BnaWRKY18.6* 元件在启动子集中在 1000~2000 bp 区间的分布位置且高度重合。总体来讲, 同一分支的成员在进化中保留了相似的启动子调控序列, 其元件组成、分布高度一致, 可能具有相似的生物学功能。不同分支间的元件差异, 可能是基因复制后发生功能分化的结果, 使 *WRKY18* 家族能够适应不同的环境胁迫与生长发育需求。

3.5. *WRKY18* 基因家族共线性分析

为揭示六种禹氏三角物种 WRKY 基因家族的共线性进化模式, 本研究构建了禹氏三角物种白菜、甘蓝、黑芥、芥菜型油菜、甘蓝型油菜和埃塞俄比亚芥基因组共线性图谱(图 4)。在黑芥-埃塞俄比亚芥-甘蓝的共线性分析中(图 4(a)), 其中黑芥在 B02、B03 和 B05 号染色体上鉴定到 3 个 *WRKY18* 同源基因 *BniWRKY18.3*、*BniWRKY18.2* 和 *BniWRKY18.1*, 在甘蓝的 C1、C3 和 C7 号染色体上鉴定到 3 个 *WRKY18* 同源基因 *BolWRKY18.1*、*BolWRKY18.2* 和 *BolWRKY18.3*。而作为黑芥和甘蓝的天然杂交后代埃塞俄比亚芥, 同时保留了来自黑芥的 B 基因组 *BcaWRKY18.3* 和来自甘蓝的 C 基因组 *BcaWRKY18.4*、*BcaWRKY18.1*, 验证了其与二倍体亲本黑芥、甘蓝的共线性对应关系, 证明了异源多倍化过程中 *WRKY18* 基因的亚基因组保留与分化。

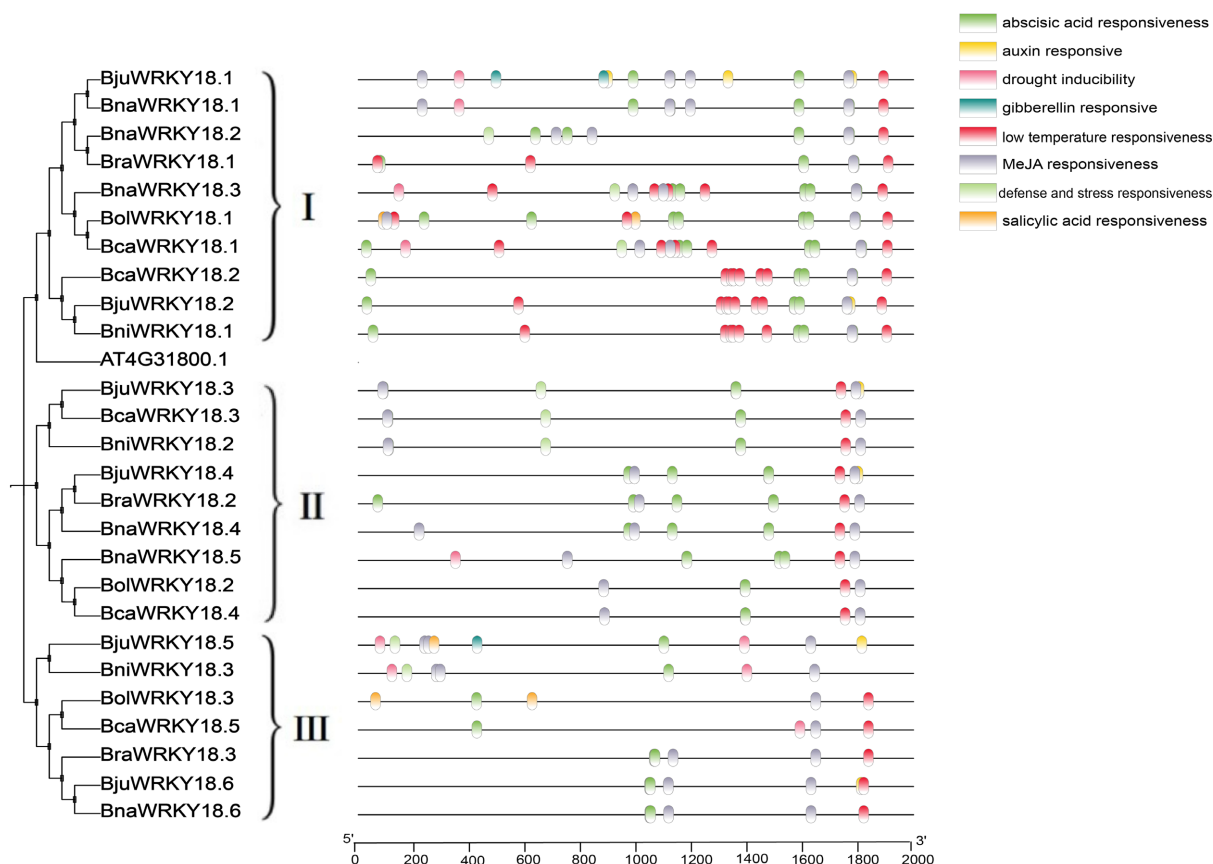


Figure 3. Distribution of cis-elements in the promoter regions of *WRKY18* genes in U-Triangle species

图 3. 禹氏三角物种 *WRKY18* 基因启动子区域顺式元件分布

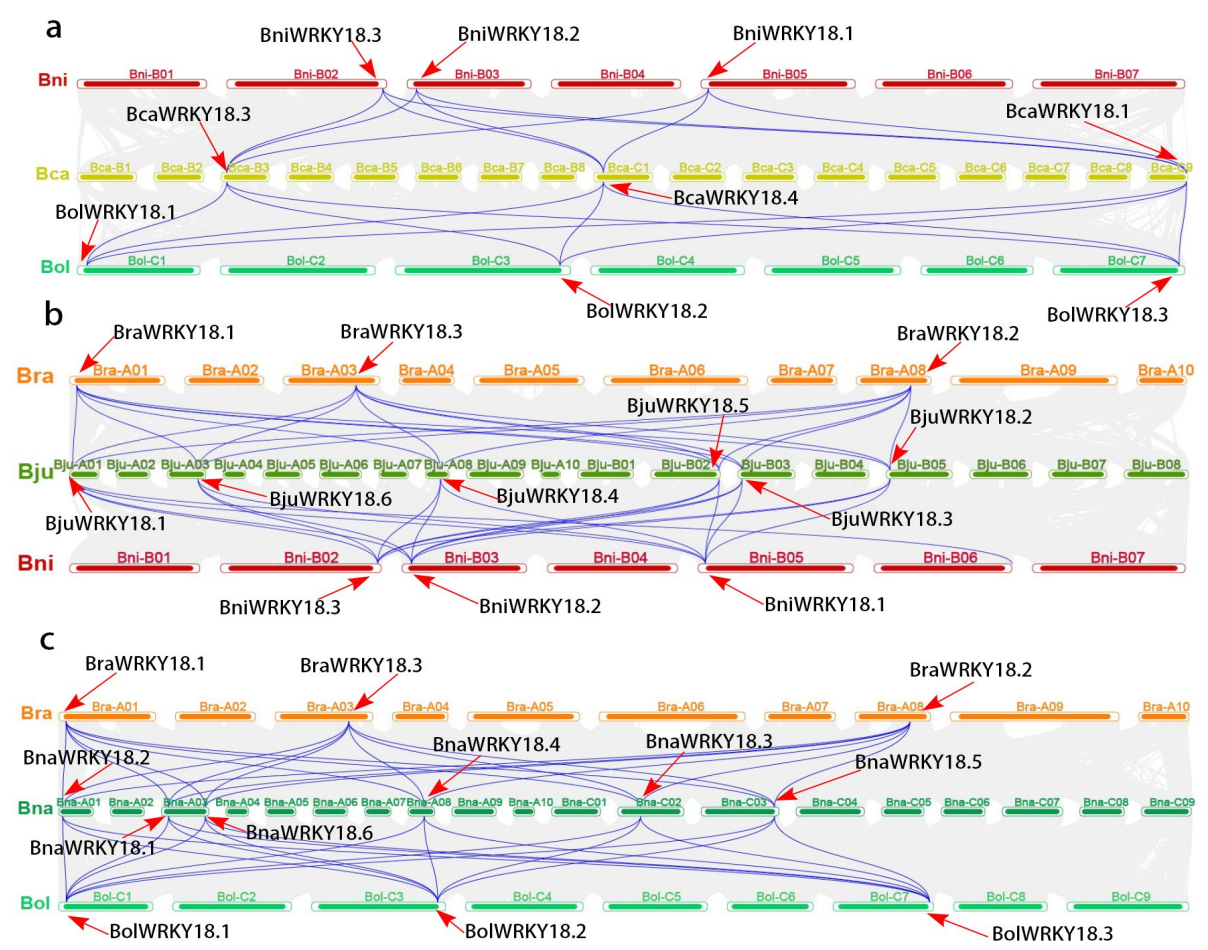
在白菜-芥菜型油菜-黑芥的共线性分析中(图 4(b)), 在白菜的 A01、A03 和 A08 号染色体上鉴定到 3 个 *WRKY18* 同源基因 *BraWRKY18.1*、*BraWRKY18.3* 和 *BraWRKY18.2*, 在黑芥的 B02、B03 和 B05 号染色体上鉴定到 3 个 *WRKY18* 同源基因 *BniWRKY18.3*、*BniWRKY18.2* 和 *BniWRKY18.1*。而作为白菜和黑芥的天然杂交后代芥菜型油菜, *WRKY18* 家族显著扩张, 共鉴定到 6 个同源基因。基因数量为二倍体亲本的两倍, 蓝色连线完整展示了其与二倍体亲本白菜和黑芥的一一对应关系。

在白菜-甘蓝型油菜-甘蓝的共线性分析中(图 4(c)), 其中白菜在 A01、A03 和 A08 号染色体上鉴定到 3 个 *WRKY18* 同源基因 *BraWRKY18.1*、*BraWRKY18.3* 和 *BraWRKY18.2*, 在甘蓝的 C1、C3 和 C7 号染色体上鉴定到 3 个 *WRKY18* 同源基因 *BolWRKY18.1*、*BolWRKY18.2* 和 *BolWRKY18.3*。甘蓝型油菜作为白菜与甘蓝天然杂交形成的异源四倍体, 甘蓝型油菜的 *WRKY18* 家族同样发生显著扩张, 共鉴定到 6 个同源基因, 基因数量为二倍体亲本的两倍, 说明甘蓝型油菜在多倍化过程中稳定继承了双亲的 *WRKY18* 基因, 基因排布与结构高度保守, 这种共线性保留与家族扩张为 *WRKY18* 基因在抗病、抗逆等生物学过程中的功能分化提供了重要遗传基础。

3.6. *BnaWRKY18* 基因的组织特异性表达模式

利用已发表的甘蓝型油菜“ZS11”组织器官转录组数据分析发现[23], *BnaWRKY18* 基因家族 6 个成员的表达水平在根、叶片、芽、愈伤组织、角果中表达水平差异, 均有明显差异(图 5)。在叶片中, *BnaWRKY18* 家族所有成员在叶片中普遍低表达, 为 0.5~4.3。在根中, 成员 *BnaWRKY18.4* 和 *BnaWRKY18.6* 表达较高,

其中 *BnaWRKY18.6* 的表达量为 95.5。在愈伤组织中, *BnaWRKY18* 基因家族 6 个成员中, 表达量最高的是 *BnaWRKY18.5*, 表达量为 13.6。有趣的是, *BnaWRKY18* 基因家族 6 个成员中, *BnaWRKY18.1*、*BnaWRKY18.2*、*BnaWRKY18.3* 均在角果中表达量最高, 其中 *BnaWRKY18.2*、*BnaWRKY18.3* 的表达量分别为 65 和 37.5, 在角果中的表达量显著高于其他组织。



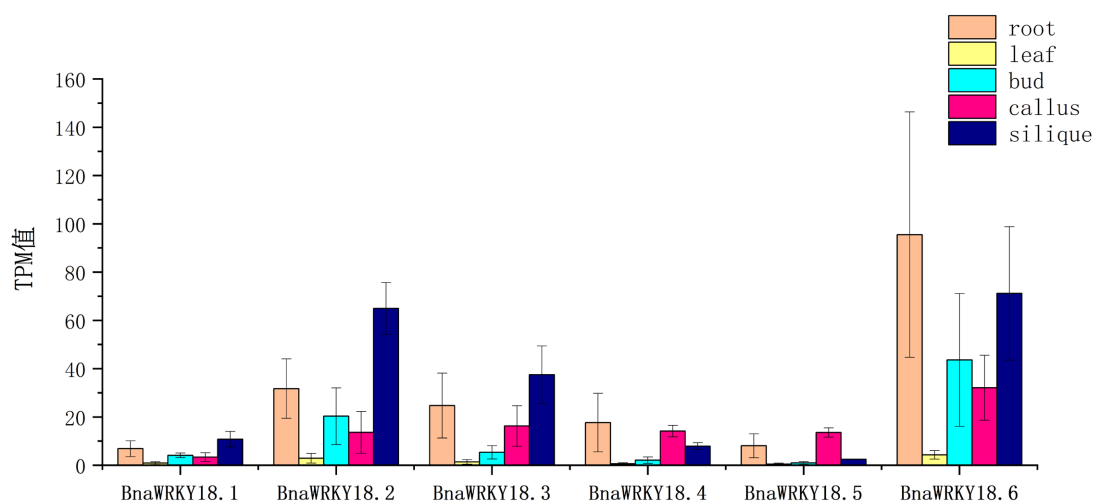
注: Bni: 黑芥, Bca: 埃塞俄比亚芥, Bol: 甘蓝, Bra: 白菜, Bju: 芥菜, Bna: 油菜。

Figure 4. Syntenic relationships of the *WRKY18* gene family in U-Triangle species

图 4. 禹氏三角物种 *WRKY18* 基因家族的共线性关系

3.7. 核盘菌胁迫下 *BnaWRKY18* 基因的表达模式

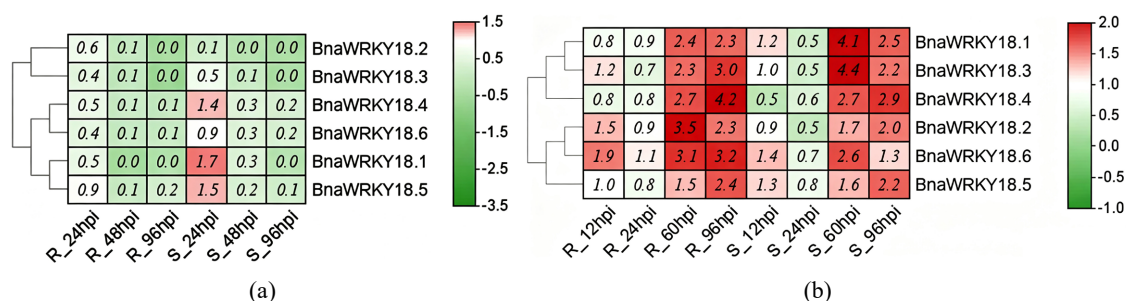
核盘菌(*Sclerotinia sclerotiorum*)引起的菌核病是全球范围内包括甘蓝型油菜在内的许多重要作物上最具破坏性的病害之一。Wu 等[24]选取油菜抗病品系(R)与感病品系(S), 于接种核盘菌后 24、48、96 小时(24 hpi, 48 hpi, 96 hpi)及模拟接种(mock)的取茎作为样品, 并提取其 RNA 进行转录组测序。本研究利用 Wu 等的油菜茎感染核盘菌的转录组数据[24], 分析 *BnaWRKY18* 基因家族成员的表达模式(图 6(a))。在抗病品系中, *BnaWRKY18* 所有成员均呈下降趋势, 在 48 hpi 时下降为对照的 1/10。在感病品系中, 原 *BnaWRKY18.2*、*BnaWRKY18.3* 和 *BnaWRKY18.3* 也呈下降趋势, 其中 *BnaWRKY18.2* 表达量下降迅速, 在 24 hpi 时已经下降为对照的 1/10。值得注意的是, 感病品系中, *BnaWRKY18.4*、*BnaWRKY18.1*、*BnaWRKY18.5* 在 24 hpi 上调, 为对照的 1.4~1.7 倍, 随后快速下调, 48 hpi 下降为对照的 0.2~0.3 倍。



注：甘蓝油菜 *BnaWRKY18* 在根、叶、芽、愈伤组织、角果中表达水平，TPM 值用于柱形图的构建。

Figure 5. Tissue-specific expression profile of *BnaWRKY18*

图 5. *BnaWRKY18* 组织特异性表达模式



注：R：抗性品系，S：感病品系；hpi：接种后小时数；红色表示上调，绿色表示下调；方框中的数字表示倍数。TPM 值用于构建热图。

Figure 6. Expression profile of *BnaWRKY18* under stress from *S. sclerotiorum* and *Plasmodiophora brassicae*. (a) Expression profile after inoculation with *Sclerotinia sclerotiorum*. (b) Expression profile after inoculation with *Plasmodiophora brassicae*

图 6. *BnaWRKY18* 在核盘菌和根肿菌胁迫下的表达模式。(a) 接种核盘菌后的表达模式。(b) 接种根肿菌后的表达模式

随着油菜种植强度的加大，由芸薹根肿菌(*Plasmodiophora brassicae*)引起的根肿病发病率和严重程度迅速上升，研究油菜根肿病抗性的调控机制和相关基因也具有重要的现实意义。Li 等[25]选取甘蓝型油菜抗病品系(R)与感病品系(S)，接种根肿菌 4 号小种，设置处理时间点为接种后 12、24、48、96 小时(12 hpi, 24 hpi, 48 hpi, 96 hpi)，提取根的 RNA 进行转录组测序。本研究利用 Li 等 RNA 转录组测序数据[25]，分析 *BnaWRKY18* 成员在油菜感染根肿菌的表达模式(图 6(b))。从图中可以看出所有 *BnaWRKY* 成员在 R 抗病品系中的表达量峰值均显著高于 S 感病品系，说明这些基因在油菜抗根肿菌反应中可能发挥关键作用。在 R 抗病品系中初期 12~24 hpi 时，表达量基本维持在中低水平，有个别成员 *BnaWRKY18.2*、*BnaWRKY18.3*、*BnaWRKY18.6* 有小幅上涨后回落，在时间点 60 hpi 后表达量随处理时间明显上升，其中表达量上调最高的是 96 hpi 的 *BnaWRKY18.4*，是初始表达量的 4.2 倍。其次是在 60 hpi 的 *BnaWRKY18.2*，该时间点表达量是 *BnaWRKY18.2* 的最高表达量，为初始值的 3.5 倍。在 R 抗病品系中，*BnaWRKY18* 成员随时间的增长，表达量均呈上升趋势。在 S 感病品系中，*BnaWRKY18* 成员，在早期 12 hpi 时，成员 *BnaWRKY18.1*、*BnaWRKY18.5*、*BnaWRKY18.6* 的表达量小幅上升后回落。与 R 抗病系相同的是，在时间

点 60 hpi 后表达量随处理时间明显上升, 其中成员 *BnaWRKY18.3* 的上调幅度最大, 为初始感病系的 4.4 倍。其次是成员 *BnaWRKY18.1*, 为初始值的 4.1 倍。总体来讲, *BnaWRKY18* 成员在受到根肿菌侵染时, 无论是抗病品系还是感病品系的响应集中的侵染的中期, 表达量都明显上调。说明 *BnaWRKY18* 是植物识别病原后启动基础防御反应的核心组分, 参与病害早期的信号感知或初级防御过程。不同的是, 感病品系相对而言, 部分成员的响应启动快于抗病品系。在时间维度上存在明确分工, 这种时间特异性的表达模式, 体现了油菜通过 WRKY 转录因子网络, 分阶段、多层次抵御根肿菌侵染的分子机制。

4. 讨论

WRKY 基因家族作为一类转录因子在植物内广泛存在, 参与植物对生物、非生物胁迫因子的应答反应以及植物器官的发育和衰老、等一系列生理生化活动。本研究基于禹氏三角模型, 系统鉴定了六个芸薹属物种的 *WRKY18* 基因家族成员, 并对其进化特征及表达模式进行了分析, 揭示了该基因家族在芸薹属多倍化进化过程中的动态变化及其在生物胁迫响应中的潜在功能。

本研究在白菜、甘蓝、黑芥三个二倍体基本种中各鉴定到 3 个 *WRKY18* 基因, 对应拟南芥中的 1 个 *AtWRKY18*, 印证了芸薹属祖先经历的全基因组三倍化事件[12][13]。这种“1:3”的对应关系表明, *WRKY18* 位点在三倍化过程中被完整保留并扩张。但这种完整保留并非适用于所有基因家族, 已有研究表明, 部分转录因子家族在三倍化后会发生偏好性丢失[26]。因此, *WRKY18* 位点的保守性扩张暗示该家族在芸薹属祖先中可能已经承担了不可替代的基础防御功能, 从而受到强烈的纯化选择压力。进一步观察四倍体复合种, 在芥菜型油菜和甘蓝型油菜中分别鉴定到 6 个基因, 契合了禹氏三角所描述的种间杂交与自然加倍形成异源四倍体的遗传规律。值得注意的是, 在埃塞俄比亚芥中仅鉴定出 5 个 *WRKY18* 基因, 低于预期的 6 个。然而, 埃塞俄比亚芥是唯一出现缺失的异源四倍体, 从埃塞俄比亚芥中 *WRKY18* 基因的保留可以看出, 不同异源多倍体的基因组稳定性存在差异[27]。这可能与杂交事件发生的时间以及选择压力有关。这一发现也提醒我们, 在推演多倍化基因保留规律时, 对待单个物种的结论应尽可能覆盖多个独立多倍化事件。未来可对埃塞俄比亚芥中缺失的 *WRKY18* 基因拷贝进行精细定位, 验证其是否因表观修饰而沉默或者是从基因组中真正删除。

通过构建禹氏三角六种芸薹属植物的共线性图谱, 系统解析了 *WRKY18* 基因家族的进化与扩张模式。结果显示, 二倍体物种白菜、甘蓝、黑芥各含 3 个 *WRKY18* 同源基因, 而异源四倍体芥菜型油菜、甘蓝型油菜均保留双亲亚基因组的 *WRKY18* 基因, 与二倍体亲本呈现严格共线性对应, 且基因结构与染色体排布在多倍化过程中高度保守。这种严格的共线性保留, 意味着 *WRKY18* 位点在多倍体形成过程中没有发生大规模的染色体重排或转座子插入, 进一步支持了该家族功能的保守性。系统进化树显示, 禹氏三角物种的 *WRKY18* 基因共分为三组(I, II, III)。而在每个基因组内, 四倍体物种的基因与其二倍体亲本的基因分别聚类, 也从分子进化角度证实了禹氏三角物种间的同源关系。需要注意的是, 进化树中未见任何四倍体特异性新分支, 表明 *WRKY18* 家族在四倍体形成后并未发生快速的新功能化, 而是主要继承了祖先已有的分支类型。与多倍化后基因迅速分化[28]的普遍观点形成对比, 提示转录因子核心家族可能具有更强的演化惯性。

尽管基因数量发生了变化, 但 *WRKY18* 家族在序列和结构上表现出高度的保守性。所有成员均含有典型的 WRKY 结构域, 且该结构域均由两个外显子编码并位于基因 3'端, 这强调了其在功能中的核心地位, 强选择压力使其在进化中得以稳定保留[1][2]。Motif 分析显示, 所有 *WRKY18* 蛋白均含有 motif 1-5, 覆盖了 WRKYGQK 核心序列及锌指结构, 是蛋白行使其转录调控功能的基础。然而, I、II、III组内以及禹氏三角物种种内不同成员之间在 Motif 的数量和组成上存在一定的差异, 这暗示了在漫长的进化过程中, 尽管核心功能保守, 但 *WRKY18* 基因可能通过获得或丢失特定的调控元件或蛋白互作模块, 发

生了功能上的亚功能化或新功能化[6]。未来可通过酵母双杂交或免疫共沉淀实验,验证不同分支成员之间蛋白互作能力的差异,从而揭示 motif 变异是否确实改变了蛋白互作网络。

启动子顺式作用元件分析,发现 *WRKY18* 基因家族成员在功能上的分化和协同。从进化分支来看,*WRKY18* 家族 3 个分支呈现明显的元件分化特征。分支 I 元件类型最丰富,兼具干旱、赤霉素和生长素响应元件,调控网络更复杂广谱;分支 II 元件组成保守,以水杨酸、茉莉酸甲酯和脱落酸响应元件为主,偏向生物胁迫与基础免疫调控;分支 III 元件数量较少,功能更趋特化。同一分支内成员在元件类型、数量与位置上高度相似,与系统发育聚类结果高度一致,说明同分支基因来自共同祖先复制,在进化中保留了相似的转录调控模式。而分支间的元件差异则是基因复制后功能分化的体现,使 *WRKY18* 家族能够协同应对多样的环境胁迫与生长发育需求。值得注意的是,分支 I 中特有的干旱诱导、赤霉素及生长素响应元件,提示这些成员可能参与了植物激素交叉对话。已有研究表明,赤霉素与防御信号往往存在拮抗关系[29]。而分支 I 成员同时具备两组元件,暗示它们可能是防御与发育平衡的关键调控节点。此外,同分支元件分布在多物种中高度一致,说明分支分化事件早于芸薹属物种分化,多倍化只是放大了这种差异。这一推论可以通过比较芸薹科其他属的 *WRKY18* 基因来进一步验证。

转录组数据分析发现,在甘蓝型油菜抗核盘菌反应中,成员间存在明确的时间分工。*BnaWRKY18.5* 和 *BnaWRKY18.6* 的早期(12 hpi)响应,暗示它们可能作为病原相关分子模式触发免疫(PTI)的早期组件,迅速启动防御信号。而 *BnaWRKY18.4* 在抗病品系 96 hpi 的持续高表达,则表明其可能参与效应子触发免疫(ETI)或系统获得性抗性(SAR)的维持,通过调控植保素合成或病程相关蛋白(PR)基因的表达来建立长期抗性[7] [24] [30]。有趣的是,*BnaWRKY18.1* 在感病品系 24 hpi 的强烈上调后迅速沉默,这种“瞬时爆发”可能被病原菌利用以干扰寄主免疫,或反映了寄主防御被成功抑制的过程。已有文献报道,坏死营养型病原菌核盘菌能够分泌效应蛋白干扰寄主转录因子的稳定性[31]。此外,本研究基于已发表的转录组数据,未能在相同条件下比较所有六个物种的胁迫响应,后续可设计统一处理的感染实验,以评估不同物种中 *WRKY18* 同源基因是否保留了相似的诱导模式。

5. 结论

综上所述,本研究从进化基因组学层面,解析了禹氏三角物种 *WRKY18* 基因家族的演化历程和表达特征。研究不仅验证了芸薹属多倍体进化的理论,还揭示了甘蓝型油菜 *WRKY18* 在核盘菌胁迫下的时序调控,为后续改良油菜抗病性提供了重要的候选基因资源。禹氏三角物种 *WRKY18* 家族在芸薹属反复多倍化过程中,实现了基础防御功能的维持与适应性分化的统一。这一发现为理解多倍体植物中关键转录因子家族的演化逻辑提供了一个可比较的范例。

基金项目

本研究由重庆市科学技术局基金项目(CSTB2024NSCQ-MSX0502),重庆市教育委员会基金项目(KJQN202300518, KJQN202500527)共同资助。

参考文献

- [1] Tian, Y., Lu, X.-Y., Peng, L.-S. and Fang, J. (2006) The Structure and Function of Plant WRKY Transcription Factors. *Hereditas*, **28**, 1607-1612. <https://doi.org/10.1360/yc-006-1607>
- [2] Chen, X., Zhang, T., Wang, H., Zhao, W. and Guo, Z. (2025) Transcription Factor WRKY Complexes in Plant Signaling Pathways. *Phytopathology Research*, **7**, Article No. 54. <https://doi.org/10.1186/s42483-025-00349-x>
- [3] Li, Y., Li, X., Wei, J., Cai, K., Zhang, H., Ge, L., et al. (2021) Genome-Wide Identification and Analysis of the WRKY Gene Family and Cold Stress Response in *Acer truncatum*. *Genes (Basel)*, **12**, Article No. 1867. <https://doi.org/10.3390/genes12121867>

- [4] Ma, Z. and Hu, L. (2024) WRKY Transcription Factor Responses and Tolerance to Abiotic Stresses in Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, **25**, Article No. 6845. <https://doi.org/10.3390/ijms25136845>
- [5] Grzechowiak, M., Ruszkowska, A., Sliwiak, J., Urbanowicz, A., Jaskolski, M. and Ruszkowski, M. (2022) New Aspects of DNA Recognition by Group II WRKY Transcription Factor Revealed by Structural and Functional Study of ATWRKY18 DNA Binding Domain. *International Journal of Biological Macromolecules*, **213**, 589-601. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.05.186>
- [6] Sektas, M., Hasan, N. and Szybalski, W. (2001) Expression Plasmid with a Very Tight Two-Step Control: Int/Att-Mediated Gene Inversion with Respect to the Stationary Promoter. *Gene*, **267**, 213-220. [https://doi.org/10.1016/s0378-1119\(01\)00395-x](https://doi.org/10.1016/s0378-1119(01)00395-x)
- [7] Zheng, Z., Qamar, S.A., Chen, Z. and Mengiste, T. (2006) Arabidopsis WRKY33 Transcription Factor Is Required for Resistance to Necrotrophic Fungal Pathogens. *The Plant Journal*, **48**, 592-605. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313x.2006.02901.x>
- [8] Lippok, B., Birkenbihl, R.P., Rivory, G., Brümmer, J., Schmelzer, E., Logemann, E., *et al.* (2007) Expression of AtWRKY33 Encoding a Pathogen- or PAMP-Responsive WRKY Transcription Factor Is Regulated by a Composite DNA Motif Containing W Box Elements. *Molecular Plant-Microbe Interactions*®, **20**, 420-429. <https://doi.org/10.1094/mpmi-20-4-0420>
- [9] Cui, Q., Yan, X., Gao, X., Zhang, D., He, H. and Jia, G. (2018) Analysis of WRKY Transcription Factors and Characterization of Two Botrytis Cinerea-Responsive LrWRKY Genes from *Lilium regale*. *Plant Physiology and Biochemistry*, **127**, 525-536. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.04.027>
- [10] Cheng, F., Wu, J. and Wang, X.W. (2014) Genome Triplication Drove the Diversification of *Brassica* Plants. *Horticulture Research*, **1**, 14024. <https://doi.org/10.1038/hortres.2014.24>
- [11] Blanc, G., Hokamp, K. and Wolfe, K.H. (2003) A Recent Polyploidy Superimposed on Older Large-Scale Duplications in the Arabidopsis Genome. *Genome Research*, **13**, 137-144. <https://doi.org/10.1101/gr.751803>
- [12] Wang, X.W., Wang, H.Z., Wang, J., *et al.* (2011) The Genome of the Mesopolyploid Crop Species *Brassica rapa*. *Nature Genetics*, **43**, 1035-1039. <https://doi.org/10.1038/ng.919>
- [13] Cheng, F., Wu, J., Cai, X., Liang, J., Freeling, M. and Wang, X. (2018) Gene Retention, Fractionation and Subgenome Differences in Polyploid Plants. *Nature Plants*, **4**, 258-268. <https://doi.org/10.1038/s41477-018-0136-7>
- [14] Kathe, E.I., Schierholt, A., Schiessl, S.-V., He, F., Lv, Z., Batley, J., Becker, H.C. and Mason, A.S. (2023) Genetic Factors Inherited from Both Diploid Parents Interact to Affect Genome Stability and Fertility in Resynthesized Allotetraploid *Brassica napus*. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, **13**, jkad136. <https://doi.org/10.1093/g3journal/jkad136>
- [15] Song, X., Wei, Y., Xiao, D., Gong, K., Sun, P., Ren, Y., *et al.* (2021) *Brassica carinata* Genome Characterization Clarifies U's Triangle Model of Evolution and Polyploidy in Brassica. *Plant Physiology*, **186**, 388-406. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiab048>
- [16] Chen, C., Wu, Y., Li, J., Wang, X., Zeng, Z., Xu, J., *et al.* (2023) TBtools-II: A “One for All, All for One” Bioinformatics Platform for Biological Big-Data Mining. *Molecular Plant*, **16**, 1733-1742. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2023.09.010>
- [17] Irani, S., Trost, B., Waldner, M., Nayidu, N., Tu, J., Kusalik, A.J., *et al.* (2018) Transcriptome Analysis of Response to *Plasmodiophora brassicae* Infection in the Arabidopsis Shoot and Root. *BMC Genomics*, **19**, Article No. 23. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-4426-7>
- [18] Yuan, Y., Qin, L., Su, H., Yang, S., Wei, X., Wang, Z., *et al.* (2021) Transcriptome and Coexpression Network Analyses Reveal Hub Genes in Chinese Cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *Pekinensis*) during Different Stages of *Plasmodiophora brassicae* Infection. *Frontiers in Plant Science*, **12**, Article ID: 650252. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.650252>
- [19] Song, H., Guo, Z., Duan, Z., Li, M. and Zhang, J. (2023) WRKY Transcription Factors in *Arachis hypogaea* and Its Donors: From Identification to Function Prediction. *Plant Physiology and Biochemistry*, **204**, Article ID: 108131. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.108131>
- [20] Eulgem, T., Rushton, P.J., Robatzek, S. and Somssich, I.E. (2000) The WRKY Superfamily of Plant Transcription Factors. *Trends in Plant Science*, **5**, 199-206. [https://doi.org/10.1016/s1360-1385\(00\)01600-9](https://doi.org/10.1016/s1360-1385(00)01600-9)
- [21] Eulgem, T. and Somssich, I.E. (2007) Networks of WRKY Transcription Factors in Defense Signaling. *Current Opinion in Plant Biology*, **10**, 366-371. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2007.04.020>
- [22] Saha, B., Nayak, J., Srivastava, R., Samal, S., Kumar, D., Chanwala, J., *et al.* (2023) Unraveling the Involvement of WRKY TFs in Regulating Plant Disease Defense Signaling. *Planta*, **259**, Article No. 7. <https://doi.org/10.1007/s00425-023-04269-y>
- [23] Chen, X., Tong, C., Zhang, X., Song, A., Hu, M., Dong, W., *et al.* (2020) A High-Quality *Brassica napus* Genome Reveals Expansion of Transposable Elements, Subgenome Evolution and Disease Resistance. *Plant Biotechnology Journal*, **19**, 615-630. <https://doi.org/10.1111/pbi.13493>

-
- [24] Wu, J., Zhao, Q., Yang, Q., Liu, H., Li, Q., Yi, X., *et al.* (2016) Comparative Transcriptomic Analysis Uncovers the Complex Genetic Network for Resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* in *Brassica napus*. *Scientific Reports*, **6**, Article No. 19007. <https://doi.org/10.1038/srep19007>
- [25] Li, L., Long, Y., Li, H. and Wu, X. (2020) Comparative Transcriptome Analysis Reveals Key Pathways and Hub Genes in Rapeseed during the Early Stage of *Plasmodiophora brassicae* Infection. *Frontiers in Genetics*, **10**, Article No. 1275. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.01275>
- [26] Lou, P., Wu, J., Cheng, F., Cressman, L.G., Wang, X. and McClung, C.R. (2012) Preferential Retention of Circadian Clock Genes during Diploidization Following Whole Genome Triplication in *Brassica rapa*. *The Plant Cell*, **24**, 2415-2426. <https://doi.org/10.1105/tpc.112.099499>
- [27] Lv, R.L., Wang, C.Y., Wang, R.S., *et al.* (2022) Chromosomal Instability and Phenotypic Variation in a Specific Lineage Derived from a Synthetic Allotetraploid Wheat. *Frontiers in Plant Science*, **13**, 981234. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.981234>
- [28] Fu, Y., Zhang, Y.F., Mason, A.S., *et al.* (2019) NBS-Encoding Genes in *Brassica napus* Evolved Rapidly after Allopolyploidization and Co-Localize with Known Disease Resistance Loci. *Frontiers in Plant Science*, **10**, 26. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00026>
- [29] Um, T.Y., Lee, H.Y., Lee, S., *et al.* (2018) Jasmonate Zim-Domain Protein 9 Interacts with Slender Rice 1 to Mediate the Antagonistic Interaction between Jasmonic and Gibberellic Acid Signals in Rice. *Frontiers in Plant Science*, **9**, 1866. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01866>
- [30] Tang, Y. and Xia, P. (2025) WRKY Transcription Factors: Key Regulators in Plant Drought Tolerance. *Plant Science*, **359**, Article ID: 112647. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2025.112647>
- [31] Liu, X.F., Zhao, H.Y., Yuan, M.Y., *et al.* (2024) An Effector Essential for Virulence of Necrotrophic Fungi Targets Plant HIRs to Inhibit Host Immunity. *Nature Communications*, **15**, Article No. 9391. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-53725-0>