

研究报告

Research Report

## 大麦全基因组 WRKY 基因家族生物信息学分析

毛成志<sup>1,2</sup> 王蕾<sup>1</sup> 孔豆豆<sup>1,2</sup> 王寒冬<sup>1</sup> 张怀刚<sup>1</sup> 沈裕虎<sup>1</sup> 徐金青<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> 中国科学院西北高原生物研究所, 青海省作物分子育种重点实验室, 中国科学院高原适应与进化重点实验室, 西宁, 810001; <sup>2</sup> 中国科学院大学, 北京, 100049

\* 通信作者, xjq1088@126.com

**摘要** WRKY 基因家族是一类含有 WRKY 保守结构域的转录因子, 参与植物众多生理生化过程, 在植物生长发育、代谢以及胁迫应答等过程中发挥重要作用。目前, 已在多种植物中对 WRKY 转录因子进行了系统鉴定和分析, 但是还未见有大麦 WRKY 基因家族系统筛选和鉴定的报道。本研究利用最新的大麦基因组数据, 经生物信息学鉴定共得到 98 条大麦 WRKY 转录因子, 其编码蛋白质序列长度为 117~676 aa。有 91 条可以定位到大麦 7 条染色体上并呈不均匀分布, 3H 染色体上分布最多达 25 条, 6H 上最少仅有 5 条。通过系统进化分析, 大麦 98 个 WRKY 转录因子根据其保守结构域可分为 I、II 和 III 组, 各组分别有 10 个、52 个和 36 个成员, 其中 II 组可进一步分成 II-a、II-b、II-c、II-d 和 II-e 5 个亚组。保守基序分析表明, 大麦的 20 个保守基序中, 有 6 个为 WRKY 结构域的保守基序, 各组内部成员拥有一致的保守基序。本研究可为进一步开展大麦 WRKY 基因的发掘与功能验证提供科学依据。

**关键词** 大麦(*Hordeum vulgare* L.), 转录因子, WRKY 系统, 进化分析

## Bioinformatics Analysis of WRKY Gene Family in Barley Genome

Mao Chengzhi<sup>1,2</sup> Wang Lei<sup>1</sup> Kong Doudou<sup>1,2</sup> Wang Handong<sup>1</sup> Zhang Huaigang<sup>1</sup> Shen Yuhu<sup>1</sup> Xu Jinqing<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Key Laboratory of Adaptation and Evolution of Plateau Biota (AEPB), Qinghai Provincial Key Laboratory of Crop Molecular Breeding, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining, 810001; <sup>2</sup> University of Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100049

\* Corresponding author, xjq1088@126.com

DOI: 10.13271/j.mpb.017.007623

**Abstract** WRKY is a superfamily of transcription factor, containing a conserved WRKY domain. The WRKY families plays important roles in plant by regulating various physiological and biochemical processes such as development, metabolism and response to stress. WRKY genes have been identified with systematic analysis and comparison in various plants. However, little information has been reported about the systematic identification and analysis of WRKY genes in barley. In the present study, we identified 98 WRKY genes in barley with bioinformatics information using the barley genome data, and the protein length ranged from 117 to 676 aa. Location analysis revealed that 91 WRKY genes with specific location information were distributed unevenly on all 7 chromosomes. Most of the WRKYs were presented on chromosome 3H (25), while the fewest on chromosome 6H (5). According to the structure of conserved domain, all together 98 WRKYs were classified into three major groups, including 10 type-I genes, 52 type-II genes and 36 type-III genes. Furthermore, type-II genes can be divided into 5 groups, namely II-a (5), II-b (4), II-c (21), II-d (7) and II-e (15). MEME analysis showed that among the 20 con-

基金项目: 本研究由青海省科技成果转化专项(2016-NK-131)、青海省创新平台建设专项项目(2017-ZJ-Y14)和中科院科技服务网络(STS)计划区域重点项目“青海高寒农牧交错区饲草品种培育与推广”共同资助

引用格式: Mao C.Z., Wang L., Kong D.D., Wang H.D., Zhang H.G., Shen Y.H., and Xu J.Q., 2019, Bioinformatics analysis of WRKY gene family in barley genome, *Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding)*, 17(23): 7623-7633 (毛成志, 王蕾, 孔豆豆, 王寒冬, 张怀刚, 沈裕虎, 徐金青, 2019, 大麦全基因组 WRKY 基因家族生物信息学分析, *分子植物育种*, 17(23): 7623-7633)

served motifs in barley, 6 were affirmed in WRKY domains, and similar conserved motifs were shared within groups. This study provides a foundation for function and evolution analysis of WRKY genes in barley.

**Keywords** Barley (*Hordeum vulgare* L.), Transcriptional factor, WRKY, Phylogenetic analysis

大麦(*Hordeum vulgare* L.)是全球第四大谷类作物,同时也是最早驯化的作物之一。大麦作为研究气候变化对农艺性状和生理过程影响机制的模式作物,被用来开展了大量非生物和生物胁迫适应机制方面的研究。2012年,国际大麦测序联盟首次公布了大麦基因组测序图谱(Mayer et al., 2012)。2017年,该组织结合细菌人工染色体的分层鸟枪法测序、纳米通道阵列基因组作图、染色体尺度支架组装和染色体构象捕获等,将大麦(Morex)的基因组进行组装,组装完成的大麦基因组大小为4.79 Gb,其中94.8%的组装序列能够明确定位在大麦七条染色体上(Mascher et al., 2017)。大麦全基因组测序的完成及完善,对于我们充分利用大麦种质资源开展相关基因的克隆和功能鉴定提供了前所未有的机遇。

转录因子(Transcription factors)在植物调节自身的生长发育、抵御生物和非生物胁迫方面起着重要的作用(于延冲等, 2010)。WRKY转录因子是植物中最大的转录调控因子家族之一,其名称源于靠近N端有一段约60个氨基酸组成的WRKY保守结构域。另外,在C端具有Cys2His2或Cys2His-Cys型锌指结构,该结构能够与靶基因启动子中的W盒(TTGACC(A/T) (Eulgem et al., 2000; Rushton et al., 2010)或者SURE(糖响应顺式基序)(Sun et al., 2003)特异结合使得下游基因被激活从而调控基因的表达,进而响应植物的逆境胁迫及其他信号途径(王娜等, 2014)。

Eulgem等(2000)根据WRKY结构域的数目和锌指结构的类型,将WRKY蛋白分为I、II和III三组。其中I组中含有两个WRKY结构域,锌指结构为C2H2型;II组蛋白含有一个WRKY结构域,锌指结构为C2H2。II组WRKY蛋白根据氨基酸的核心序列又可以分为II-a、II-b、II-c、II-d、II-e五种类型;III组蛋白中含有一个WRKY结构域,其锌指结构为C2HC型。

Ishiguro和Nakamura(1994)首次在甘薯中发现一个WRKY转录因子并命名为SPF。随着各种植物基因组测序的逐步完成,人们在全基因组水平上对WRKY转录因子家族逐渐的进行了系统发掘和鉴定:拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中存在72个WRKY基因家族成员(Ülker and Somssich, 2004);土豆(*Solanum*

*tuberosum*)中有81个WRKY转录因子(黄胜雄和刘永胜, 2013);大白菜(*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*)中有134个WRKY转录因子(蒋明等, 2013);蓖麻(*Ricinus communis* L.)中有56个WRKY转录因子(邹智, 2013);蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*)中有93个WRKY转录因子(宋辉和南志标, 2014);辣椒(*Capsicum frutescens* L.)中有71个WRKY转录因子(刁卫平等, 2015);苹果(*Malus domestica* Borkh.)中有132个WRKY转录因子(谷彦冰等, 2015);乌拉尔图小麦(*Triticum urartu*)中有62个WRKY转录因子(马建辉等, 2015);桃子(*Amygdalus persica* L.)有61个WRKY转录因子(谷彦冰等, 2016)。Mangelsen等(2008)报道中大麦中至少有45个WRKY转录因子。随后根据2012年大麦基因组测序结果,Liu等(2014)发现大麦中WRKY转录因子有94个。本研究利用最新发表的大麦基因组数据,对大麦中的WRKY转录因子(*HvWRKY*)进行系统筛选、染色体定位、进化树构建和保守结构域鉴定等工作,为大麦WRKY转录因子的功能研究提供依据。

## 1 结果与分析

### 1.1 *HvWRKY* 序列鉴定与筛选

在大麦基因组数据库中采用“WRKY”关键词共搜索到107条基因序列,用SMART在线工具分析并剔除无典型WRKY结构域的序列后,保留98条序列作为大麦WRKY转录因子家族候选基因(表1)。染色体定位结果表明(图1),上述候选基因中的91条序列呈不均匀分布在大麦基因组所有7条染色体上,其余7条未能锚定到具体染色体上。从单条染色体来看,3H上WRKY基因分布最多,有25个。其次是5H,分布有18个WRKY基因。6H上分布的WRKY基因最少,仅有5个。总体来看,大多数*HvWRKY*基因分布在染色体近末端区域。

候选*HvWRKY*基因编码蛋白序列的长度和等电点各不相同,其中*HvWRKY5H\_79*编码蛋白序列最长(676 aa),*HvWRKY3H\_45*编码蛋白最短(117 aa),平均长度为322 aa。98条候选WRKY蛋白序列的等电点范围为4.73(*HvWRKY1H\_13*)~11.58(*HvWRKY3H\_38*) (表1)。

表 1 候选 *HbWRKY* 基因基本信息  
Table 1 Summary of candidate *HbWRKY* genes

基因名称	定位名称	染色体	定位(bp)	类型	WRKY 结构域	锌指结构	大小(aa)	分子量(kD)	等电点
Gene name	Locus name	Chr.	Location (bp)	Type	WRKY domain	Zinc-finger	Size (aa)	MW (kD)	pI
<i>HbWRKY0H_3</i>	HORVU0Hr1G004890.12	U	28 152 810~28 157 297	I	WRKYGQK	CX4CX23HXX	602	64.40	5.97
<i>HbWRKY1H_13</i>	HORVU1Hr1G069620	1H	486 467 558~486 655 176	I	WRKYGQK	CX4CX23HXX	214	23.45	4.73
<i>HbWRKY2H_28</i>	HORVU2Hr1G034420.2	2H	140 216 912~140 220 801	I	WRKYGQK	CX4CX23HXX	448	48.74	6.14
<i>HbWRKY2H_29</i>	HORVU2Hr1G036320.1	2H	160 425 724~160 433 794	I	WRKYGQK	CX4CX23HXX	615	66.40	6.48
<i>HbWRKY3H_56</i>	HORVU3Hr1G088200.5	3H	624 065 176~624 067 709	I	WRKYGQK	CX4CX23HXX	599	63.36	7.30
<i>HbWRKY4H_63</i>	HORVU4Hr1G048400.12	4H	390 705 028~390 708 928	I	WRKYGQK	CX4CX23HXX	388	42.61	7.21
<i>HbWRKY5H_70</i>	HORVU5Hr1G028340.1	5H	167 139 622~167 146 098	I	WRKYGQK	CX4CX23HXX	492	52.36	8.40
<i>HbWRKY5H_74</i>	HORVU5Hr1G049030.1	5H	379 856 591~379 859 514	I	WRKYGQK	CX4CX23HXX	334	36.66	9.01
<i>HbWRKY5H_79</i>	HORVU5Hr1G072020.1	5H	534 720 376~534 725 296	I	WRKYGQK	CX4CX23HXX	676	73.31	6.11
<i>HbWRKY7H_93</i>	HORVU7Hr1G066670.4	7H	342 977 472~343 005 909	I	WRKYGQK	CX4CX23HXX	580	63.64	7.02
<i>HbWRKY5H_77</i>	HORVU5Hr1G065380.2	5H	500 496 285~500 497 192	II-a	WRKYGQK	CX5CX23HXX	174	19.65	8.29
<i>HbWRKY5H_78</i>	HORVU5Hr1G065420.1	5H	500 706 932~500 708 647	II-a	WRKYGQK	CX5CX23HXX	331	35.77	8.02
<i>HbWRKY6H_87</i>	HORVU6Hr1G028790.1	6H	115 444 384~115 446 574	II-a	WRKYGQK	CX5CX23HXX	353	38.62	8.14
<i>HbWRKY7H_97</i>	HORVU7Hr1G113830.3	7H	638 244 506~638 245 873	II-a	WRKYGQK	CX5CX23HXX	319	34.30	9.21
<i>HbWRKY7H_98</i>	HORVU7Hr1G113850.4	7H	638 275 296~638 276 637	II-a	WRKYGQK	CX5CX23HXX	406	43.84	9.39
<i>HbWRKY3H_35</i>	HORVU3Hr1G020210.2	3H	62 169 508~62 172 594	II-b	WRKYGQK	CX5CX23HXX	526	55.07	8.41
<i>HbWRKY3H_37</i>	HORVU3Hr1G033740.2	3H	178 816 679~178 819 800	II-b	WRKYGQK	CX5CX23HXX	629	66.11	8.77
<i>HbWRKY6H_90</i>	HORVU6Hr1G079710.2	6H	538 586 222~538 588 908	II-b	WRKYGQK	CX5CX24HXX	620	65.30	5.20
<i>HbWRKY7H_91</i>	HORVU7Hr1G021260.1	7H	30 017 772~30 023 102	II-b	WRKYGQK	CX5CX23HXX	609	62.74	9.30
<i>HbWRKY0H_1</i>	HORVU0Hr1G001430.1	U	7 503 092~7 504 648	II-c	WRKYGKK	CX4CX23HXX	218	22.94	6.82
<i>HbWRKY0H_2</i>	HORVU0Hr1G003340.8	U	13 730 541~13 731 804	II-c	X	CX4CX23HXX	149	16.40	8.59
<i>HbWRKY1H_14</i>	HORVU1Hr1G069640.2	1H	486 545 479~486 549 323	II-c	WRKYGKK	CX4CX23HXX	293	32.28	7.66
<i>HbWRKY1H_15</i>	HORVU1Hr1G070250.2	1H	488 799 209~488 802 078	II-c	WRKYGQK	CX4CX23HXX	512	55.50	5.33
<i>HbWRKY1H_16</i>	HORVU1Hr1G080300.1	1H	524 845 795~524 847 193	II-c	WRKYGQK	CX4CX23HXX	279	29.74	6.57
<i>HbWRKY1H_21</i>	HORVU1Hr1G090170.1	1H	545 489 557~545 490 934	II-c	WRKYGQK	CX4CX23HXX	247	25.79	5.83
<i>HbWRKY1H_8</i>	HORVU1Hr1G092130.1	1H	549 783 755~549 787 242	II-c	WRKYGKK	CX4CX23HXX	309	32.25	6.45
<i>HbWRKY2H_23</i>	HORVU2Hr1G001780.1	2H	3 723 976~3 729 067	II-c	WRKYGQK	CX4CX23HXX	196	21.52	8.83
<i>HbWRKY2H_30</i>	HORVU2Hr1G093350.3	2H	657 822 746~657 827 015	II-c	WRKYGQK	CX4CX23HXX	230	25.13	8.84
<i>HbWRKY3H_34</i>	HORVU3Hr1G020140.3	3H	61 369 781~61 370 425	II-c	WRKYGKK	CX4CX23HXX	119	13.02	9.69
<i>HbWRKY3H_36</i>	HORVU3Hr1G021120.2	3H	67 266 816~67 272 759	II-c	WRKYGQK	CX4CX23HXX	264	27.92	9.96
<i>HbWRKY3H_39</i>	HORVU3Hr1G050590.2	3H	362 932 844~362 934 206	I	WRKYGQK	CX4CX23HXX	602	64.40	5.97
<i>HbWRKY3H_44</i>	HORVU3Hr1G060500.1	3H	460 762 240~460 768 227	I	WRKYGQK	CX4CX23HXX	214	23.45	4.73
<i>HbWRKY3H_45</i>	HORVU3Hr1G067510.3	3H	512 943 178~512 945 67	I	WRKYGQK	CX4CX23HXX	448	48.74	6.14

续表 1  
Continuing table 1

基因名称	定位名称	染色体	定位(bp)	类型	WRKY 结构域	锌指结构	大小(aa)	分子量(kD)	等电点
Gene name	Locus name	Chr.	Location (bp)	Type	WRKY domain	Zinc-finger	Size (aa)	MW (kD)	pI
<i>HbWRKY3H_47</i>	HORVU3Hr1G069660.1	3H	527 940 849~527 946 669	II-c	WRKYGQK	CX4CX23HXX	231	25.35	6.65
<i>HbWRKY3H_55</i>	HORVU3Hr1G086180.1	3H	615 951 667~615 954 535	II-c	WRKYGQK	CX4CX23HXX	319	34.17	6.01
<i>HbWRKY3H_58</i>	HORVU3Hr1G115180.1	3H	692 832 346~692 834 916	II-c	WRKYGQK	CX4CX23HXX	384	40.43	5.25
<i>HbWRKY4H_59</i>	HORVU4Hr1G002390.3	4H	4 364 245~4 365 720	II-c	WKYGGQK	CX4CX22HXX	136	14.73	8.93
<i>HbWRKY5H_82</i>	HORVU5Hr1G096420.20	5H	601 272 072~601 274 219	II-c	WRKYGQK	CX4CX23HXX	302	XX	XX
<i>HbWRKY6H_88</i>	HORVU6Hr1G061940.2	6H	414 351 834~414 354 927	II-c	WRKYGQK	CX4CX23HXX	227	25.33	8.90
<i>HbWRKY7H_92</i>	HORVU7Hr1G049130.1	7H	170 723 442~170 725 809	II-c	WRKYGQK	CX4CX23HXX	245	26.38	9.97
<i>HbWRKY2H_31</i>	HORVU2Hr1G101100.2	2H	692 832 758~692 833 862	II-d	WRKYGQK	CX5CX23HXX	180	19.12	10.07
<i>HbWRKY3H_38</i>	HORVU3Hr1G039500.1	3H	233 580 657~233 584 711	II-d	WRKYGQK	X	317	33.94	11.58
<i>HbWRKY4H_61</i>	HORVU4Hr1G012580.5	4H	41 735 624~41 736 326	II-d	WRKYGQK	X	153	16.31	10.33
<i>HbWRKY5H_69</i>	HORVU5Hr1G015120.1	5H	56 772 026~56 773 561	II-d	WRKYGQK	CX5CX23HXX	302	32.54	10.02
<i>HbWRKY5H_75</i>	HORVU5Hr1G052630.1	5H	411 960 127~411 964 449	II-d	WRKYGQK	X	181	19.63	10.53
<i>HbWRKY5H_80</i>	HORVU5Hr1G092770.2	5H	589 215 964~589 216 936	II-d	WRKYGQK	CX5CX23HXX	299	XX	XX
<i>HbWRKY5H_84</i>	HORVU5Hr1G122800.2	5H	662 774 254~662 775 301	II-d	WRKYGQK	X	257	27.30	10.61
<i>HbWRKY1H_22</i>	HORVU1Hr1G090190.6	1H	545 513 765~545 516 907	II-e	WRKYGQK	CX5CX23HXX	254	26.68	5.62
<i>HbWRKY1H_9</i>	HORVU1Hr1G092360.1	1H	550 471 300~550 472 320	II-e	WRKYGQK	CX5CX23HXX	268	29.13	7.71
<i>HbWRKY2H_32</i>	HORVU2Hr1G102740.3	2H	697 856 647~697 864 487	II-e	WRKYGQK	CX5CX23HXX	312	34.11	7.93
<i>HbWRKY3H_40</i>	HORVU3Hr1G055910.5	3H	417 326 506~417 333 281	II-e	WRKYGQK	CX5CX23HXX	442	47.72	8.43
<i>HbWRKY3H_46</i>	HORVU3Hr1G069320.3	3H	525 868 984~525 871 081	II-e	WRKYGQK	CX5CX23HXX	297	31.29	5.14
<i>HbWRKY3H_48</i>	HORVU3Hr1G071750.1	3H	542 307 447~542 309 442	II-e	WRKYGQK	CX5CX23HXX	281	30.68	5.15
<i>HbWRKY3H_57</i>	HORVU3Hr1G097420.1	3H	655 711 574~655 712 733	II-e	WRKYGQK	X	319	34.12	10.50
<i>HbWRKY4H_60</i>	HORVU4Hr1G011590.2	4H	36 194 588~36 197 584	II-e	WRKYGQK	CX5CX23HXX	412	45.49	10.10
<i>HbWRKY4H_67</i>	HORVU4Hr1G082550.2	4H	622 602 029~622 603 188	II-e	WRKYGQK	CX5CX23HXX	246	26.10	10.06
<i>HbWRKY5H_68</i>	HORVU5Hr1G014710.1	5H	54 421 544~54 424 134	II-e	WRKYGQK	CX5CX23HXX	355	38.10	10.17
<i>HbWRKY5H_81</i>	HORVU5Hr1G094050.4	5H	593 672 000~593 674 388	II-e	WRKYGQK	CX5CX23HXX	395	42.52	10.03
<i>HbWRKY5H_83</i>	HORVU5Hr1G106570.2	5H	624 439 320~624 441 905	II-e	WRKYGQK	CX5CX23HXX	452	48.08	9.20
<i>HbWRKY5H_85</i>	HORVU5Hr1G124320.9	5H	665 873 547~66 5877 799	II-e	WRKYGQK	CX5CX23HXX	354	38.27	5.94
<i>HbWRKY6H_89</i>	HORVU6Hr1G067680.3	6H	469 691 285~46 9695 395	II-e	WRKYGQK	CX5CX23HXX	561	XX	XX
<i>HbWRKY7H_95</i>	HORVU7Hr1G080950.1	7H	480 933 241~48 0935 257	II-e	WRKYGQK	CX5CX24HXX	407	43.21	6.02
<i>HbWRKY0H_4</i>	HORVU0Hr1G012740.1	U	73 225 306~7 3226 843	III	WRKYGQK	CX7CX23HXC	323	XX	XX
<i>HbWRKY0H_5</i>	HORVU0Hr1G012750.1	U	73 252 818~7 3254 114	III	WRKYGQK	CX7CX23HXC	332	XX	XX
<i>HbWRKY0H_6</i>	HORVU0Hr1G023420.1	U	118 244 291~11 8247 536	III	WRKYGEK	CX7CX24HXC	312	34.77	5.47
<i>HbWRKY0H_7</i>	HORVU0Hr1G030830.1	U	179 616 536~17 9617 671	III	WRKYGQK	CX7CX23HXC	280	30.04	9.08

续表 1  
Continuing table 1

基因名称	定位名称	染色体	定位(bp)	类型	WRKY 结构域	锌指结构	大小(aa)	分子量(kD)	等电点
Gene name	Locus name	Chr.	Location (bp)	Type	WRKY domain	Zinc-finger	Size (aa)	MW (kD)	pI
<i>HbWRKY1H_10</i>	HORVU1Hr1G027700	1H	143 405 694~14 3407 012	III	WRKYGEK	CX7CX24HXC	199	22.03	6.37
<i>HbWRKY1H_11</i>	HORVU1Hr1G051260	1H	380 276 799~38 0278 368	III	WRKYGQK	CX7CX23HXC	340	36.78	6.59
<i>HbWRKY1H_12</i>	HORVU1Hr1G069610	1H	486 434 521~48 6437 514	III	WRKYGEK	CX7CX24HXC	289	32.27	5.58
<i>HbWRKY1H_17</i>	HORVU1Hr1G081570.1	1H	527 977 231~52 7980 247	III	WRKYGQK	CX7CX23HXC	306	32.85	9.68
<i>HbWRKY1H_18</i>	HORVU1Hr1G088300.1	1H	541 485 679~54 1488 517	III	WRKYGQK	CX7CX23HXC	288	30.67	9.25
<i>HbWRKY1H_19</i>	HORVU1Hr1G090110.1	1H	545 364 782~54 5365 999	III	WRKYGQK	CX7CX23HXC	253	26.67	5.10
<i>HbWRKY1H_20</i>	HORVU1Hr1G090130.3	1H	545 426 607~54 5463 701	III	WRKYGQK	CX7CX23HXC	175	19.32	5.6
<i>HbWRKY2H_24</i>	HORVU2Hr1G006600.1	2H	13 841 091~1 3842 321	III	WTKYGQK	CX8CX27HXC	321	35.38	8.36
<i>HbWRKY2H_25</i>	HORVU2Hr1G017740.3	2H	44 646 769~4 4648 862	III	WRKYGQK	CX7CX23HXC	348	36.55	6.75
<i>HbWRKY2H_26</i>	HORVU2Hr1G029430.2	2H	104 974 255~10 4975 280	III	WRKYGQK	CX7CX	244	26.31	8.40
<i>HbWRKY2H_27</i>	HORVU2Hr1G029460.1	2H	105 194 566~10 5195 945	III	WRKYGQK	CX7CX23HXC	300	32.01	6.10
<i>HbWRKY2H_33</i>	HORVU2Hr1G109330.1	2H	716 404 110~71 6405 772	III	WRKYGQK	CX7CX23HXC	325	34.71	7.16
<i>HbWRKY3H_41</i>	HORVU3Hr1G058670.1	3H	442 677 805~44 2679 264	III	WRKYGQK	CX7CX11HXC	249	XX	XX
<i>HbWRKY3H_42</i>	HORVU3Hr1G059210.1	3H	447 808 997~44 7810 086	III	WRKYGQK	CX7CX23HXC	244	XX	XX
<i>HbWRKY3H_43</i>	HORVU3Hr1G059220.1	3H	448 010 657~44 8012 205	III	WRKYGQK	CX7CX23HXC	308	32.70	6.54
<i>HbWRKY3H_49</i>	HORVU3Hr1G080860.1	3H	591 187 318~59 1191 422	III	WRKYGQK	CX7CX24HXC	256	27.67	7.15
<i>HbWRKY3H_50</i>	HORVU3Hr1G080890.3	3H	591 573 320~59 1578 847	III	WRKYGQK	CX7CX24HXC	266	29.54	5.81
<i>HbWRKY3H_51</i>	HORVU3Hr1G080960.1	3H	592 192 222~59 2195 424	III	WKYGEK	CX7CX26HXC	360	39.10	5.45
<i>HbWRKY3H_52</i>	HORVU3Hr1G080980.1	3H	592 402 294~59 2403 506	III	WTKYGQK	CX6CX23HXC	245	26.21	6.42
<i>HbWRKY3H_53</i>	HORVU3Hr1G081000.1	3H	592 420 667~59 2422 546	III	WRKYGQK	CX7CX27HXC	191	20.95	8.55
<i>HbWRKY3H_54</i>	HORVU3Hr1G081030.3	3H	592 448 328~59 2453 837	III	WTKYGQK	CX6CX23HXC	320	34.47	7.37
<i>HbWRKY4H_62</i>	HORVU4Hr1G022970.2	4H	122 784 816~12 2788 054	III	WRKYGEK	CX7CX24HXC	279	30.72	9.30
<i>HbWRKY4H_64</i>	HORVU4Hr1G050320.2	4H	410 351 473~41 0353 071	III	WRKYGQK	CX7CX23HXC	298	31.41	6.52
<i>HbWRKY4H_65</i>	HORVU4Hr1G051970.1	4H	428 199 793~42 8200 819	III	WRKYGEK	CX7CX24HXC	125	14.64	9.66
<i>HbWRKY4H_66</i>	HORVU4Hr1G052010.2	4H	428 289 057~42 8291 428	III	WRKYGEK	CX7CX24HXC	206	22.91	8.38
<i>HbWRKY5H_71</i>	HORVU5Hr1G034830.3	5H	237 020 077~23 7021 943	III	WRKYGQK	CX7CX23HXC	332	35.89	6.16
<i>HbWRKY5H_72</i>	HORVU5Hr1G046390.2	5H	360 368 583~36 0370 568	III	WRKYGQK	CX7CX28HXC	373	40.57	8.04
<i>HbWRKY5H_73</i>	HORVU5Hr1G046430.1	5H	361 022 538~36 1023 800	III	WRKYGQK	CX7CX31HXC	326	36.07	6.02
<i>HbWRKY5H_76</i>	HORVU5Hr1G056130.2	5H	439 201 633~43 9207 065	III	WRKYGQK	CX7CX23HXC	392	42.09	5.85
<i>HbWRKY6H_86</i>	HORVU6Hr1G013890.3	6H	29 376 027~2 9378 225	III	WRKYGQK	CX7CX23HXC	221	23.70	8.69
<i>HbWRKY7H_94</i>	HORVU7Hr1G075960.1	7H	442 019 709~44 2022 925	III	WRKYGQK	CX7CX23HXC	293	30.89	9.26
<i>HbWRKY7H_96</i>	HORVU7Hr1G083270.2	7H	501 968 337~50 1970 007	III	WRKYGQK	CX7CX23HXC	308	XX	XX

注: U: 染色体位置未知; X: 锌指结构缺失; XX: 由于未知氨基酸太多, 分子量及等电点无法估计

Note: U: The chromosomal location is unknown; X: Zinc-finger structure is missing; XX: Molecular weight and isoelectric point cannot be estimated due to too many unknown amino acids

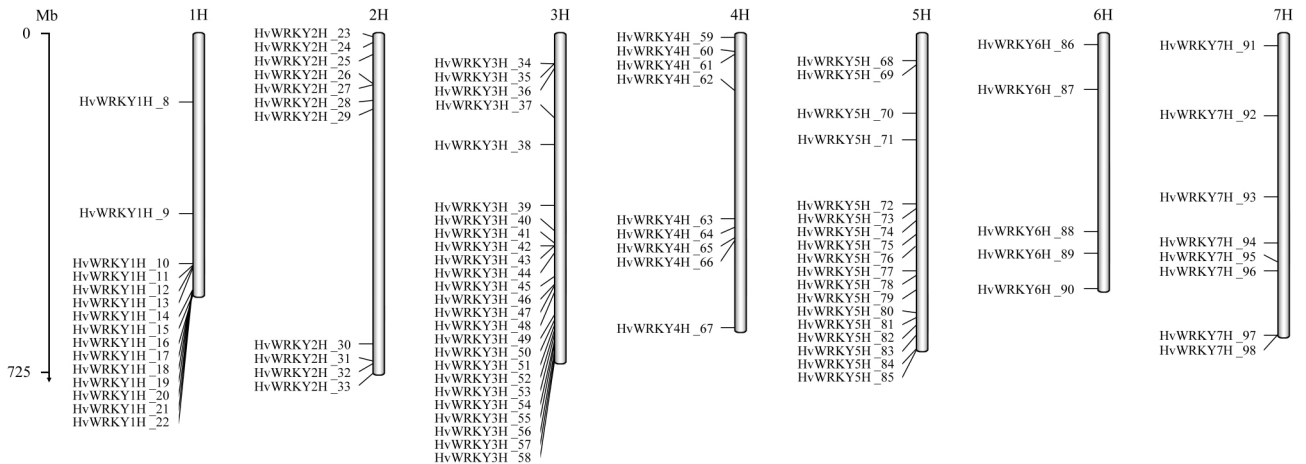


图 1 大麦 *HvWRKY* 基因家族的染色体定位  
Figure 1 Chromosomal locations of the *HvWRKY* gene family in barley

### 1.2 *HvWRKY* 转录因子的分类及其系统发育关系

利用 ClustalX 2.1 软件对 98 条候选 *HvWRKY* 和 14 条 *AtWRKY* 条蛋白序列进行多重比对分析, 结合拟南芥 *WRKY* 转录因子的分类对候选 *HvWRKY* 的保守结构域进行鉴定和分析。结果显示, 大麦 *WRKY* 家族蛋白序列亦可分为 I、II 和 III 三组 (Groups) (图 2)。I 组包括 10 条 *WRKY* 蛋白序列, 在其 N 端和 C 端分别存在两个 *WRKY* 保守结构域。N 端 *WRKY* 七肽和锌指结构为 *WRKYGQK* 和 *CX4C22HXH* 形式, 而 C 端则是 *WRKYGQK* 和 *CX4C23HXH* 形式。II 组共有 52 条 *WRKY* 蛋白序列, 又可进一步划分为 5 个亚组 (Sub-groups): II-a、II-b、II-c、II-d 和 II-e, 分别有 5 条、4 条、21 条、7 条和 15 条 *WRKY* 序列。II-a、II-b、II-d 和 II-e 的 *WRKY* 七肽和锌指结构为 *WRKYGQ(R)K* 和 *CX5C23HXH* 形式。II-d 中的 *HvWRKY5H\_69* 编码序列的七肽发生变异为 *WRK-YGRK*。II-c 的七肽有 *WRKYGQK*、*WRKYGKK* 和 *WKYGYGQK* 三种形式, 锌指结构为 *CX4C23HXH*。II-c 亚组中的 *HvWRKY0H\_2* 编码序列 *WRKY* 结构域缺失。III 组包括 36 条 *WRKY* 序列, 其七肽结构域有 *WRKYGQK*、*WRKYGEK*、*WTKYGYGQK* 和 *WK-KYGYGQK* 四种形式, 锌指结构主要为 *CX7C23HXC*。*HvWRKY* 除存在七肽结构的变异外, 在锌指结构也存在变异: 其中 II-d 亚组中的 *HvWRKY3H\_38*、*HvWRKY4H\_61*、*HvWRKY5H\_75*、*HvWRKY5H\_84* 和 II-e 亚组中的 *HvWRKY3H\_57* 编码序列的锌指结构发生缺失。III 组中锌指结构的变异丰富, 出现 *CX6C23HXC*、*CX7C11HXC*、*CX7C24HXC*、*CX7C26HXC*、*CX7C27HXC*、*CX7C28HXC*、*CX7C31HXC* 和 *CX8C27HXC* 多种形式。另外, *HvWRKY2H\_*

26 中的锌指结构为 *CX7CX*, 其 *HXC* 的结构发生缺失 (表 1)。

利用 MEGA6.0 构建 98 条候选 *HvWRKY* 和 14 条 *AtWRKY* 蛋白序列的系统进化树 (图 3)。在进化树上, 大麦 *WRKY* 家族各组和各亚组蛋白序列聚类结果同保守结构域鉴定的结果基本一致。III 组单独聚成一个大的分支, I 组和 II 组聚为另外一个大的分支。其中 II-d 和 II-e 亚组形成次级分支, I 组和 II-a、II-b、II-c 亚组聚在一起形成另外一个次级分支。其中 II-c 亚组又被聚为两个分支。另外, 保守结构域鉴定属于 II-c 亚组的 *HvWRKY7H\_92*, 其与 I 组的 C 端 *WRKY* 保守结构域和锌指结构相似而被聚到 I 组中 (图 3)。

### 1.3 大麦 *WRKY* 基因家族保守基序分析

利用 MEME 和 WebLogo3 软件对 *HvWRKY* 转录因子氨基酸序列保守域进行分析, 共发现 20 个氨基酸保守基序 (Motif)。在 PfamScan 数据库中检索这些基序的功能, 发现 Motif 1~Motif 6 和 Motif 12 在数据库中有已知功能记录, 其中 motif 1~motif 4、motif 6 和 motif 12 是 *WRKY* 结构域的组成部分。而其余的基序在 PfamScan 数据库中暂无功能记录 (表 2)。

保守域分析结果表明, 同一个组或亚组内各成员拥有基本一致的保守基序。但是在 III 组中内部存在两种不同类型的保守基序组成 (图 4): 第一种类型 (包括 20 条 *HvWRKY* 蛋白序列) 其 N 端同时存在保守基序 8 和保守基序 14, C 端为保守基序 4; 而第二种类型 (包括 14 条 *HvWRKY* 蛋白序列) 其 N 端仅存在保守基序 8, C 端则为保守基序 9。在聚类树上, 上述两种保守域类型以黑色箭头为界限截然分开 (图 3)。*HvWRKY* 转录因子 III 组各条序列出现两种不

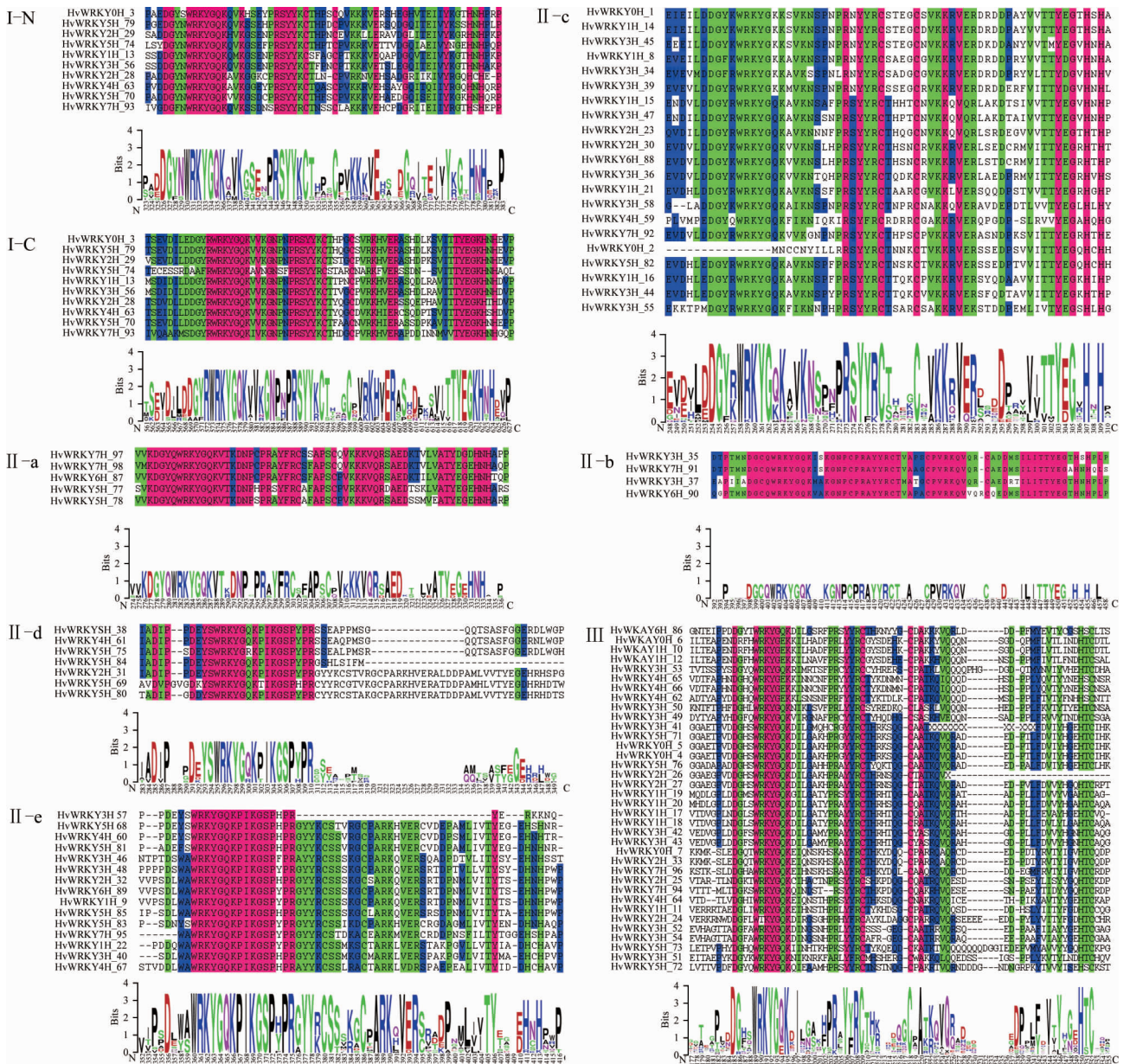


图 2 大麦 *Hv* WRKY 转录因子家族各亚组保守域分析

Figure 2 Sequence analysis of the WRKY conserved domains in the sub-groups of *Hv* WRKY proteins in barley

同的保守域结构分化，提示该组成员可能存在一定的功能分化。

另外，*Hv* WRKY 转录因子各组和各亚组有自己独特的保守域。譬如保守基序 6 是 I 组的特有保守基序，保守基序 7 仅存在于 II -c 亚组中，保守基序 16 和保守基序 5 仅存在于 II -d 亚组中。在 III 组中，第一种类型的保守基序是保守基序 14 和保守基序 4，第二种类型的特有保守基序是保守基序 9。II -e 亚组仅在 C 端存在保守基序 3，N 端不存在保守基序。但是，II -a 亚组和 II -b 亚组的各个成员具有相同的保守基序 8 和保守基序 3。这个结果同两个亚组聚类树上最近的亲缘关系相一致(图 3)。

## 2 讨论

WRKY 转录因子在高等植物中参与众多的生理生化过程，不仅参与植物的茎伸长、种子发育、叶片衰老、根发育以及毛状体的生成等生长发育过程，同时还参与植物的生物和非生物胁迫响应过程(于延冲等, 2010; 蒋明等, 2013)。本研究利用最新发布的大麦基因组数据，采用生物信息学方法系统鉴定、筛选出 98 条大麦 WRKY 转录因子序列，并对其进行了分类和保守结构鉴定等工作。

本研究鉴定得到 98 条 *Hv* WRKY 转录因子，这些转录因子呈不均匀分布在大麦的 7 条染色体上。

表 2 大麦 WRKY 转录因子蛋白序列中氨基酸保守结构域

Table 2 Conserved domains of amino acids in barley WRKY transcription factor protein sequence

保守域	长度	最佳匹配保守域的氨基酸残基序列
Conserved domains	Length	Best possible match of the amino acid of conserved domains
Motif 1	29	LDDGYRWRKYGQKDIKNNPHRSYYRCTH
Motif 2	28	ILDDGYQWRKYGQKVIKNNPHRSYYRC
Motif 3	29	CPVKKHVERCRDDPNMVITTYEGEHNHPW
Motif 4	32	KHDQGCQATKQVQRADEPLLFDVIYHGEHTC
Motif 5	80	TSVTSTSFSSVTAEEGVSVKGRSLVSAGKPPLSGHKRKPACAGAHSEANTTGSRCHCSKRRKN RVKTTVRVPAVSAKIAD
Motif 6	29	CPVKKKVEHSPDGQITEIYKGTNHHPK
Motif 7	21	MKGEKRVREPRIIFQTRSEVD
Motif 8	21	AAVVEELCKIKELNRQLEAML
Motif 9	21	QQNHEDPPMFIVTYINEHTC
Motif 10	92	LTATAGHQGCSTTTSFCFSSQAARVLAPQEHYPFSMPSTPENCFGQGASLSTSLEPSPVTSDSN RFSMTPFQAEWRARSELDEVVSALVAAG
Motif 11	21	HCNKKRKIMIKWKIQVRVISN
Motif 12	21	IPPDEYSWRKYGQKPIKGSFY
Motif 13	84	MEEVEVANSAAVESCHKLLALLSQQDPALLRSIASETGEACAKFRKVVLLSNGGGGRGGH ARGFRSRRRPVGFSLQKGFLE
Motif 14	29	GCELCRALVAQIFDVTDRSIGIIMSGHF
Motif 15	29	IHKTVAAALAAGHAEENPGASRLQLNLS
Motif 16	20	APVPQPNSLTLDFTKPNLTM
Motif 17	41	TAHRYPFQQQQNLQAQMFKRSNSGINLKFDSPPSGGTGTI
Motif 18	57	NGGPTMSPYPAGAYTEWPLDGLQEVSVFTAVSAPSMDYLFEDPTFDVDAPNFFM
Motif 19	57	VSRLKEEDADMSVTVPSYNYTYDELSSSLPFLSPKQWEMEMDIKSLFRRHSGDGN
Motif 20	80	DRCRDAALANVSNISTALASSLSVLQSEKEQYCSSSYDPGHASGASGGGVNRNGPVARSRNR KAKHRRGTYGEDLPIKEI

通过分析 WRKY 结构域及其锌指结构发现, I 组的 WRKY 结构域及其锌指结构比较保守, 而 II 组和 III 组中的 WRKY 转录因子, 在 WRKY 结构域和锌指结构均发生了不同程度的结构变异。这一结果进一步验证了 Eisen 等(1998)的研究结论: I 组 WRKY 转录因子为最原始的类型, II 组和 III 组是由 I 组通过 N 端和 C 端 WRKY 保守结构域的变异演化而来。从进化树分析来看, *Hv* WRKY 转录因子进化树结构与前人构建的大白菜 WRKY 转录因子进化树结构(蒋明等, 2013)基本一致, 说明大麦 II 组和 III 组 WRKY 转录因子是由 I 组相继进化而来。在结构上大麦 WRKY 转录因子保守程度较高, 但也存在诸多的保守域的变异, 说明 *Hv* WRKY 转录因子在进化过程中出现的多样性。III 组的 WRKY 转录因子出现两种不同的保守域结构分化, 说明大麦 WRKY 转录因子在进化过程中具有一定的物种特异性, 而在土豆中则是 II -e 发生类似的现象(黄胜雄和刘永胜, 2013)。

本研究利用最新的大麦基因组数据, 系统鉴定筛选出大麦 98 条 WRKY 家族成员并进行了染色体定位, 通过系统进化树构建和保守结构域鉴定对大麦 WRKY 家族成员进行了分类研究, 为进一步开展大麦 WRKY 家族成员的功能研究提供了依据。

### 3 材料与方法

#### 3.1 大麦 WRKY 基因鉴定及其理化性质分析

大麦最新的注释基因组序列, 包括高度可信(High-confidence)的基因序列及其相应的编码蛋白序列(Mascher et al., 2017), 可从大麦基因组的网站数据库([http://webblast.ipk-gatersleben.de/barley\\_ibsc/](http://webblast.ipk-gatersleben.de/barley_ibsc/))中进行下载。根据注释文件, 以“WRKY”为关键词获取基因组中被注释为 WRKY 转录因子的蛋白序列。然后用保守域预测软件 SMART (<http://smart.embl-heidelberg.de/>)进行分析, 筛选上述候选蛋白序列中含有 WRKY 保守域的蛋白序列。同时, 从大麦基因组数据



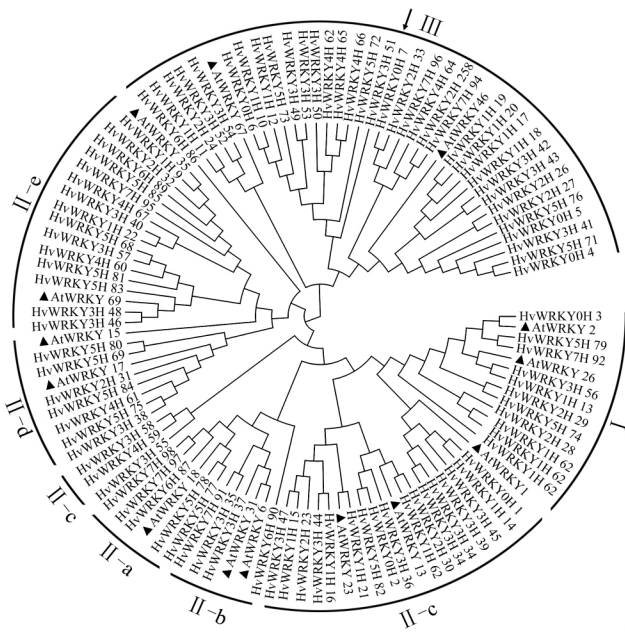


图3 大麦 HvWRKY 蛋白的保守域进化关系  
 Figure 3 Phylogenetic analysis of conserved domains in HvWRKY proteins

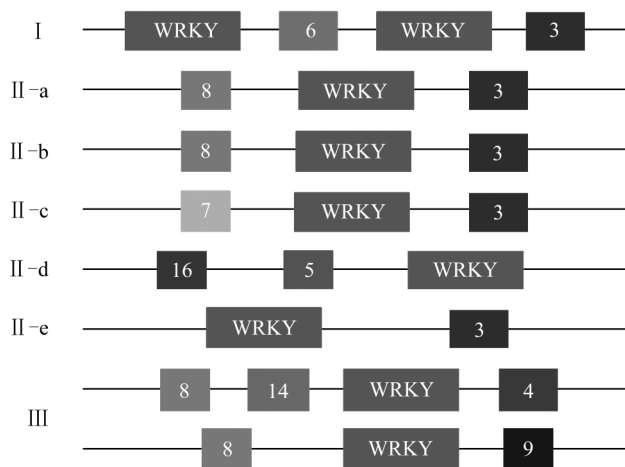


图4 大麦 HvWRKY 蛋白序列的氨基酸保守域组成  
 Figure 4 The conserved amino acid motif composition of barley HvWRKY proteins

库查找所有 WRKY 转录因子的基因组定位信息, 利用 MapInspect 软件绘制 *HvWRKY* 基因的染色体定位图谱。采用 ExPASy 提供的在线 ProtParam 软件对 *HvWRKY* 蛋白序列进行分子量和等电点分析(向贵生等, 2018)。

### 3.2 大麦 WRKY 转录因子的分类及其系统发育关系

从 TAIR (The Arabidopsis Information Resource, <http://www.arabidopsis.org>) 下载拟南芥 WRKY (*AtWRKY*) 转录因子家族各组或各亚组 1~3 条蛋白质序列作为参考序列, 利用 ClustalX 2.1 (Larkin et al., 2007)

软件对 *HvWRKY* 和 *AtWRKY* 转录因子蛋白进行多重序列比对。结合拟南芥中 WRKY 转录因子的分类, 对大麦 WRKY 转录因子进行分类。同时, 在 MEGA6.0 (Tamura et al., 2013) 中对候选 *HvWRKY* 序列与 *AtWRKY* 参考序列构建 Neighbor-Joining 系统进化树。Bootstrap 值设为 1 000, 其它参数采用默认值。

### 3.3 大麦 WRKY 转录因子的 WRKY 保守域序列分析

利用在线分析软件 MEME (<http://meme-suite.org/tools/meme>) 和 WebLogo3 (<http://weblogo.threplusone.com/>) 对大麦 WRKY 转录因子氨基酸序列的保守结构域进行预测分析(马勇等, 2017)。MEME 软件运行设置参数为: 允许保守结构域重复出现, 搜索得到的保守域上限为 20 个, 基序长度为 10~100。

### 作者贡献

毛成志、徐金青是本研究的实验设计者和实验研究的执行人; 毛成志、王蕾完成数据分析, 论文初稿的写作; 孔豆豆、王寒冬、张怀刚参与实验设计; 沈裕虎、徐金青是项目的构思者及负责人, 数据分析、论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

### 致谢

本研究由青海省科技成果转化专项(2016-NK-131)、青海省创新平台建设专项项目(2017-ZJ-Y14)和中科院科技服务网络(STS)计划区域重点项目“青海高寒农牧交错区饲草品种培育与推广”共同资助。

### 参考文献

Diao W.P., Wang S.B., Liu J.B., Pan B.G., Guo G.J., and Ge W., 2015, Genome-wide analysis of the WRKY transcription factor family in pepper, *Yuanyi Xuebao (Acta Horticulturae Sinica)*, 42(11): 2183-2196 (刁卫平, 王述彬, 刘金兵, 潘宝贵, 郭广君, 戈伟, 2015, 辣椒全基因组 WRKY 转录因子的分析, *园艺学报*, 42(11): 2183-2196)

Eisen M.B., Spellman P.T., Brown P.O., and Botstein D., 1998, Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95(25): 14863-14868

Eulgem T., Rushton P.J., Robatzek S., and Somssich I.E., 2000, The WRKY superfamily of plant transcription factors, *Trends Plant Sci.*, 5(5): 199-206

Gu Y.B., Ji Z.R., Chi F.M., Qiao Z., Xu C.N., Zhang J.X., Dong Q.L., and Zhou Z.S., 2015, Bioinformatics and expression analysis of the WRKY gene family in apple, *Zhongguo Nongye Xuebao (Scientia Agricultura Sinica)*, 48(16): 3221-

- 3238 (谷彦冰, 冀志蕊, 迟福梅, 乔壮, 徐成楠, 张俊祥, 董庆龙, 周宗山, 2015, 苹果 WRKY 基因家族生物信息及表达分析, 中国农业科学, 48(16): 3221-3238)
- Gu Y.B., Ji Z.R., Chi F.M., Qiao Z., Xu C.N., Zhang J.X., Zhou Z.S., and Dong Q.L., 2016, Genome-wide identification and expression analysis of the WRKY gene family in peach, *Yichuan (Hereditas)*, 38(3): 254-270 (谷彦冰, 冀志蕊, 迟福梅, 乔壮, 徐成楠, 张俊祥, 周宗山, 董庆龙, 2016, 桃 WRKY 基因家族全基因组鉴定和表达分析, 遗传, 38(3): 254-270)
- Huang S.X., and Liu Y.S., 2013, Genome-wide analysis of WRKY transcription factors in *Solanum tuberosum*, *Yingyong Yu Huanjing Shengwu Xuebao (Chinese Journal of Applied and Environmental Biology)*, 19(2): 205-214 (黄胜雄, 刘永胜, 2013, 土豆 WRKY 转录因子家族的生物信息学分析, 应用与环境生物学报, 19(2): 205-214)
- Ishiguro S., and Nakamura K., 1994, Characterization of a cDNA encoding a novel DNA-binding protein, SPF1, that recognizes SP8 sequences in the 5'upstream regions of genes coding for sporamin and  $\beta$ -amylase from sweet potato, *Mol. Gen. Genet.*, 244(6): 563-571
- Jiang M., Miao L.X., Zhang Y.C., Guan M., and Pan X.C., 2013, Genome-wide identification and analysis of WRKY transcription factors in Chinese cabbage, *Zhejiang Nongye Xuebao (Acta Agriculturae Zhejiangensis)*, 25(5): 980-986 (蒋明, 苗立祥, 张豫超, 管铭, 潘小翠, 2013, 大白菜 WRKY 转录因子的全基因组鉴定与分析, 浙江农业学报, 25(5): 980-986)
- Larkin M.A., Blackshields G., Brown N.P., Chenna R., McGettigan P.A., McWilliam H., Valentin F., Wallace I.M., Wilm A., Lopez R., Thompson J.D., Gibson T.J., and Higgins D. G., 2007, Clustal W and Clustal X version 2.0, *Bioinformatics*, 23(21): 2947-2948
- Liu D., Leib K., Zhao P., Kogel K.H., and Langen G., 2014, Phylogenetic analysis of barley WRKY proteins and characterization of *HvWRKY1* and -2 as repressors of the pathogen-inducible gene *HvGER4c*, *Mol. Genet. Genomics*, 289(6): 1331-1345
- Ma J.H., Zhang D.J., Gao X.L., Shao Y., and Jiang L.N., 2015, Identification and analysis of WRKY transcription factors in *Triticum urartu*, *Zuowu Xuebao (Acta Agronomica Sinica)*, 41(6): 900-909 (马建辉, 张黛静, 高小龙, 邵云, 姜丽娜, 2015, 乌拉尔图小麦 WRKY 转录因子的筛选与分析, 作物学报, 41(6): 900-909)
- Ma Y., Bao M.L., Zhang H.X., and Bade R.G., 2017, Bioinformatics analysis of WRKY transcription factor genes family in melon, *Jiyinzuxue Yu Yingyong Shengwuxue (Genomics and Applied Biology)*, 36(11): 4761-4769 (马勇, 鲍牧兰, 张红霞, 巴德仁贵, 2017, 甜瓜 WRKY 转录因子家族基因生物信息学分析, 基因组学与应用生物学, 36(11): 4761-4769)
- Mangelsen E., Kilian J., Berendzen K.W., Kolukisaoglu Ü.H., Harter K., Jansson C., and Wanke D., 2008, Phylogenetic and comparative gene expression analysis of barley (*Hordeum vulgare*) WRKY transcription factor family reveals putatively retained functions between monocots and dicots, *BMC Genomics*, 9(1): 194
- Mascher M., Gundlach H., Himmelbach A., Beier S., Twardziok S.O., Wicker T., Radchuk V., Dockter C., Hedley P.E., Russell J., Bayer M., Ramsay L., Liu H., Haberer G., Zhang X. Q., Zhang Q., Barrero R.A., Li L., Taudien S., Groth M., Felder M., Hastie A., Šimková H., Staňková H., Vrána J., Chan S., Muñoz-Amatrián M., Ounit R., Wanamaker S., Bolser D., Colmsee C., Schmutzer T., Aliyeva-Schnorr L., Grasso S., Tanskanen J., Chailyan A., Sampath D., Heavens D., Clissold L., Cao S., Chapman B., Dai F., Han Y., Li H., Li X., Lin C., McCooke J.K., Tan C., Wang P., Wang S., Yin S., Zhou G., Poland J.A., Bellgard M.I., Borisjuk L., Houben A., Doležel J., Ayling S., Lonardi S., Kersey P., Langridge P., Muehlbauer G.J., Clark M.D., Caccamo M., Schulman A.H., Mayer K.F.X., Platzer M., Close T.J., Scholz U., Hansson M., Zhang G., Braumann I., Spannagl M., Li C., Waugh R., and Stein N., 2017, A chromosome conformation capture ordered sequence of the barley genome, *Nature*, 491(7426): 711-716
- Mayer K.F., Waugh R., Brown J.W., Schulman A., and Langridge P., 2012, A physical, genetic and functional sequence assembly of the barley genome, *Nature*, 544(7651): 427-433
- Rushton P.J., Somssich I.E., Ringler P., and Shen Q.J., 2010, WRKY transcription factors, *Trends Plant Sci.*, 15(5): 247-258
- Song H., and Nan Z.B., 2014, Genome-wide identification and analysis of WRKY transcription factors in *Medicago truncatula*, *Yichuan (Hereditas)*, 36(2): 152-168 (宋辉, 南志标, 2014, 蒺藜苜蓿全基因组中 WRKY 转录因子的鉴定与分析, 遗传, 36(2): 152-168)
- Sun C., Palmqvist S., Olsson H., Borén M., and Ahlandsberg S., 2003, A novel WRKY transcription factor, SUSIBA2, participates in sugar signaling in barley by binding to the sugar-responsive elements of the *iso1* promoter, *Plant Cell*, 15(9): 2076-2092
- Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., and Kumar S., 2013, MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0, *Mol. Biol. Evol.*, 30(12): 2725
- Ülker B., and Somssich I.E., 2004, WRKY transcription factors: from DNA binding towards biological function, *Curr. Opin. Plant Biol.*, 7(5): 491-498
- Wang N., Zhang Z.B., Huang F.Z., Li H.Y., and Zhang S.Z., 2014, Advance on the role of WRKY transcription factors in

- abiotic stress response, *Henongxue Bao (Journal of Nuclear Agricultural Sciences)*, 28(10): 1819-1827 (王娜, 张振葆, 黄凤珠, 李洪有, 张素芝, 2014, WRKY 转录因子参与植物非生物胁迫应答的研究进展, *核农学报*, 28(10): 1819-1827)
- Xiang G.S., Wang K.J., Yan H.J., Li S.B., Zhou N.N., Tang K.X., and Qiu X.Q., 2018, Bioinformatics analysis of MLO protein family in rosaceae plants, *Jiyinzuxue Yu Yingyong Shengwuxue (Genomics and Applied Biology)*, 37(5): 2043-2059 (向贵生, 王开锦, 晏慧君, 李淑斌, 周宁宁, 唐开学, 邱显钦, 2018, 蔷薇科植物 MLO 蛋白家族的生物信息学分析, *基因组学与应用生物学*, 37(5): 2043-2059)
- Yu Y.C., Qiao M., Liu Z.H., and Xiang F.N., 2010, Diversification function of WRKY transcription factor, *Shengming Kexue (Chinese Bulletin of Life Sciences)*, 22(24): 345-351 (于延冲, 乔孟, 刘振华, 向凤宁, 2010, WRKY 转录因子功能的多样化, *生命科学*, 22(24): 345-351)
- Zou Z., 2013, Genome-wide identification and phylogenetic analysis of WRKY transcription factor family in castor bean, *Zhongguo Youliao Zuowu Xuebao (Chinese Journal of Oil Crop Science)*, 35(1): 36-42 (邹智, 2013, 蓖麻 WRKY 转录因子的全基因组鉴定及其进化分析, *中国油料作物学报*, 35(1): 36-42)