

引用格式: 邵妍丽, 卢贝, 贾思振, 等. 草莓 *FaWRKY70* 基因克隆与表达模式分析[J]. 西北植物学报, 2024, 44(7): 1105-1112. [SHAO Y L, LU B, JIA S Z, et al. Cloning and expression analysis of the *FaWRKY70* gene in strawberry[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2024, 44(7): 1105-1112.] DOI:10.7606/j.issn.1000-4025.20230631

# 草莓 *FaWRKY70* 基因克隆与表达模式分析

邵妍丽<sup>1</sup>, 卢 贝<sup>2</sup>, 贾思振<sup>2\*</sup>, 汤伟华<sup>2</sup>, 廖云飞<sup>1</sup>

(1 西藏职业技术学院 农业科学技术学院, 拉萨 850000; 2 江苏农林职业技术学院 农学园艺学院, 江苏句容 212400)

**摘要** 【目的】WRKY 是植物特异性转录因子家族之一, 参与植物多种生命活动, 但在草莓中鲜见 *WRKY70* 相关报道。深入解析 *WRKY70* 同源基因在草莓响应胁迫过程中的作用, 加快分子育种技术应用, 培育新草莓种质资源。【方法】用同源克隆法从‘红颜’草莓果实中克隆得到 *FaWRKY70* 基因, 用生物信息学分析其保守结构域、理化性质、蛋白质结构及进化关系等, 并结合 qRT-PCR 数据进行表达模式分析。【结果】*FaWRKY70* 基因全长 1 020 bp, 编码 339 个氨基酸; 同源基因比对发现, *FaWRKY70* 与苹果、牡丹等同科物种氨基酸序列相似度较高, 且同源基因多与植物对生物、非生物胁迫响应相关, 暗示 *FaWRKY70* 可能参与草莓抵御胁迫的过程; *FaWRKY70* 在草莓不同器官中均有表达, 且差异显著, 在花中表达量最高, 在果实中最低; 水杨酸处理后, *FaWRKY70* 基因快速响应, 表达量在 3 h 后达到最高, 随后逐渐降低; 茉莉酸甲酯处理后 *FaWRKY70* 基因受诱导响应程度小, 整体呈下调趋势。【结论】*FaWRKY70* 能通过不同响应方式参与草莓生命活动及激素信号转导过程。

**关键词** 草莓; *FaWRKY70*; 基因克隆; 差异表达

**中图分类号** Q785; Q786; S668.4 **文献标志码** A

## Cloning and expression analysis of the *FaWRKY70* gene in strawberry

SHAO Yanli<sup>1</sup>, LU Bei<sup>2</sup>, JIA Sizhen<sup>2\*</sup>, TANG Weihua<sup>2</sup>, LIAO Yunfei<sup>1</sup>

(1 Faculty of Agricultural Science and Technology, Xizang Vocational Technical College, Lhasa 850000, China; 2 Faculty of Agronomy and Horticulture, Jiangsu Vocational College of Agriculture and Forestry, Jurong, Jiangsu 212400, China)

**Abstract** [Objective] WRKY is one of the plant specific transcription factor families, involved in various plant life activities. However, currently there are few reports related to the *WRKY70* gene in strawberry. Analyzing the role of *WRKY70* homologous genes in strawberry in response to stress will help accelerate the application of molecular breeding technology and cultivate new strawberry germplasm resources. [Methods] The *FaWRKY70* gene was cloned from ‘Benihoppe’ strawberry fruits using homologous cloning method. Its conserved domain, physicochemical properties, protein structure, and evolutionary relationship were analyzed using bioinformatics. Expression pattern analysis was performed using qRT-PCR. [Results] The *FaWRKY70* gene had a length of 1 020 bp and encodes 339 amino acids. Homologous gene alignment revealed that *FaWRKY70* had a high degree of amino acid sequence similarity with species in the same family such as apple and peony. The homologous genes were mostly related to plant responses to biotic and abiotic stress, suggesting that *FaWRKY70* may be involved in resistance to stress. *FaWRKY70* was expressed in different organs of strawberry, with significant differences. The expression level was

收稿日期: 2023-10-10; 修改稿收到日期: 2024-04-24

基金项目: 西藏自治区自然科学基金项目(XZ202201ZR0004G); 江苏农林职业技术学院科技项目(2023kj23)

作者简介: 邵妍丽(1986-), 女, 讲师, 主要从事生物技术研究。E-mail: 513362239@qq.com

\* 通信作者: 贾思振, 副教授, 主要从事草莓抗病机制研究。E-mail: 93327862@qq.com

highest in flowers and lowest in fruits. Under salicylic acid treatment, the *FaWRKY70* gene was quickly responded, reaching its highest expression level after 3 hours, and gradually decreased thereafter. Under the treatment with methyl jasmonate, the *FaWRKY70* gene showed a slight degree of induction and an overall downward trend. [Conclusion] *FaWRKY70* is involved in growth and hormone signal transduction through different response modes in strawberry.

**Key words** strawberry; *FaWRKY70*; gene cloning; differential expression

草莓 (*Fragaria × ananassa* Duch.), 蔷薇科 (Rosaceae) 草莓属 (*Fragaria*), 兼具观赏和营养价值, 在全球小浆果生产中居于首位, 中国是目前世界上最大的草莓生产国之一。草莓具有株型矮小、果实生长周期较短及遗传转化效率高等特殊优势, 是果实发育研究关键的模式植物之一<sup>[1-2]</sup>。因此, 在生产上和科研中均占有重要地位。然而草莓在生产过程易受到多种生物及非生物胁迫, 直接影响草莓植株生长发育、果实产量及果实品质形成。因此, 发掘草莓抗逆基因并分析其对生物、非生物胁迫响应的调控机制对草莓品种的遗传改良具有重要意义。

WRKY 是植物特异性转录调控因子, 属最大的转录调控基因家族之一<sup>[3]</sup>。WRKY 转录因子家族成员均具 WRKY 结构域, 长度约 60 个氨基酸残基, 可特异性识别并结合靶基因启动子的 W-box 顺式元件 (TTGACC/T), 进而参与调控植物胁迫响应<sup>[4]</sup>。WRKY 结构域高度保守, N 末端包含“WRKYGQK”短肽, C 末端包含 1 个 CX7CX23-HXC (C2HC) 或 CX4-5CX22-23HXH (C2H2) 锌指结构<sup>[5]</sup>。根据所含 WRKY 保守结构域的个数和锌指结构特征, WRKY 家族成员可被分为 I、II、III 3 个组。I 组有 2 个 WRKY 结构域和 C2H2 型锌指结构, II 组有 1 个 WRKY 结构域和 C2H2 型锌指结构, III 组有 1 个 WRKY 结构域和 C2HC 型锌指结构<sup>[6]</sup>。在植物进化过程中, WRKY III 亚族被认为是 3 个亚族中适应性最强、最先进的亚族<sup>[7]</sup>。

WRKY 转录因子家族基因结构和功能具有多样性, 在生物、非生物胁迫响应及多个信号转导途径调控中起关键作用<sup>[8]</sup>。多种植物的 WRKY 家族成员已被报道, 包括番茄 (83 个)、辣椒 (62 个)、拟南芥 (75 个)、西瓜 (63 个) 等<sup>[9-12]</sup>。WRKY III 亚族成员抵御病原菌胁迫的能力已在多种植物中得到验证。研究表明, 拟南芥 WRKY III 组共 14 个基因, 其中大部分可受病原菌诱导, 如 *AtWRKY38*、*AtWRKY46*、*AtWRKY53*、*AtWRKY54*、*AtWRKY62* 和 *AtWRKY70*, 均能响应丁香假单胞菌对植物的胁迫<sup>[13-15]</sup>。其中, *AtWRKY70* 还被证明是蜡质芽孢杆菌诱导植物细

胞产生防卫反应过程所必须的<sup>[16]</sup>。多主棒孢霉菌胁迫处理条件下, 黄瓜 *CsWRKY30* 对其积极响应<sup>[17]</sup>; *OsWRKY45* 与 *OsWRKY53* 均为水稻稻瘟病抗性调控的关键基因, 其中 *OsWRKY45* 过表达植株抗水稻稻瘟病能力显著提高<sup>[18-19]</sup>。另外研究发现, WRKY III 亚族基因能被水杨酸 (SA)、茉莉酸 (JA) 等植物激素诱导表达。 *AtWRKY46*、*AtWRKY53* 及 *AtWRKY70* 受 SA 和 JA 诱导表达, 进而影响植物对假单胞杆菌以及黑斑病菌的抗性调节过程<sup>[20-21]</sup>。 *AtWRKY70* 与 *AtWRKY54* 相互协同并抑制 SA 生物合成, 进而降低拟南芥对坏死性病原体的防御力<sup>[22]</sup>; 棉花 *GhWRKY70* 可抑制 JA 信号通路及加速 SA 信号转导, 从而负调控棉花对黄萎病抗性<sup>[23]</sup>。

目前对 WRKY 基因家族成员的研究已在多种模式植物中展开, 但草莓 WRKY 基因在激素信号转导路径中, 对植物抵御各种生物胁迫能力影响研究尚不明晰。本试验用生物信息学技术对草莓 WRKY III 亚族基因 *FaWRKY70* 进行分析, 并用 qPCR 分析 *FaWRKY70* 在不同器官、不同发育期果实中的表达模式; 检测在 SA 和 JA 外源诱导下 *FaWRKY70* 的应答模式, 为阐明 WRKY III 亚族基因 *FaWRKY70* 在响应激素信号通路中的作用及草莓分子育种奠定基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

以八倍体栽培品种‘红颜’草莓果实为试验材料, 于 2022 年 12 月至 2023 年 2 月在江苏省句容市草莓种植基地采集草莓果实, 要求果形整齐端正, 果实完整且大小均一。

### 1.2 植物材料处理

根据句容本地栽培环境条件及参考文献内容, 将草莓果实发育成熟的全过程分为 7 个时期: 小绿果 (SG)、中绿果 (MG)、大绿果 (BG)、白果 (Wh)、转色期 (Tu)、半红果 (HF)、全红果 (Re)。于种植基地试验田内采集不同成熟阶段的草莓果实各 10 个, 除去果实表面种子后分别切碎混匀, 采集草莓植株根、

茎、叶、花、果等不同器官各 10 个,材料预处理后用液氮速冻并分装,存于  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱,用于测定草莓果实不同成熟阶段及植株不同器官 *FaWRKY70* 基因表达水平。试验重复 3 次。

激素处理时,每组选取 50 个外观良好的全红果实,在室温( $26\pm 1$ )  $^{\circ}\text{C}$  下分别用 4 mmol/L SA 溶液及 400  $\mu\text{mol/L}$  茉莉酸甲酯(MeJA)溶液浸泡,对照组草莓用超纯水处理,每组草莓果实浸泡 2 min,用滤纸吸干多余水分,置于( $20\pm 1$ )  $^{\circ}\text{C}$  常温下,并在处理后的 0, 0.5, 3, 6, 24 h 分别取样保存至  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 用于后期测定 *FaWRKY70* 基因表达量。试验重复 3 次。

### 1.3 *FaWRKY70* 克隆

用试剂盒(TAKARA 生物技术公司)提取样品总 RNA,用 miRNA 第 1 链 cDNA 合成试剂盒进行反转录,反应体系为 20  $\mu\text{L}$ :1  $\mu\text{g}$  的 RNA,4  $\mu\text{L}$  缓冲液( $5\times$  Prime Script Buffer),1  $\mu\text{L}$  引物(Oligo dT Primer),1  $\mu\text{L}$  随机引物(Random 6 mers),1  $\mu\text{L}$  反转录试剂(Prime Script RTase),最后用无核酸酶的水(RNase Free  $\text{dH}_2\text{O}$ )补足至 20  $\mu\text{L}$ 。反应程序为:37  $^{\circ}\text{C}$  反应 15 min,85  $^{\circ}\text{C}$  反应 5 s, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存备用。用 Primer 5.0 软件设计引物 *FaWRKY70*-F 和 *FaWRKY70*-R(表 1),以 cDNA 为模板扩增 *FaWRKY70*。反应体系 25  $\mu\text{L}$ ,包括高保真酶(LA taq) 0.25  $\mu\text{L}$ ,缓冲液(Buffer I) 12.5  $\mu\text{L}$ ,dNTP 4  $\mu\text{L}$ ,cDNA 1  $\mu\text{L}$ ,正、反向引物各 1  $\mu\text{L}$ ,灭菌水 5.25  $\mu\text{L}$ 。扩增程序:95  $^{\circ}\text{C}$  预变性 5 min,95  $^{\circ}\text{C}$  变性 30 s,60  $^{\circ}\text{C}$  退火 30 s,72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 60 s,72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 5 min,35 个循环。产物送上海生工测序。

表 1 研究所用引物

Table1 Primers used in the study

引物名称 Primer name	引用序列 Primer sequence (5'→3')
<i>FaActin</i> -F	GCCAACCGTGAGAAGATG
<i>FaActin</i> -R	TCCAGAGTCAAGAACAATACCAG
<i>FaWRKY70</i> -F	ATGGAGCAGTGGACTTGGCCGGA
<i>FaWRKY70</i> -R	TCAAAACTCATATGGAAAATCTA
Q- <i>FaWRKY70</i> -F	GGGCGTCAAGGAAGAAGAGA
Q- <i>FaWRKY70</i> -R	CGGACGACTCAAGCACACA

### 1.4 实时荧光定量分析基因表达

用 TAKARA 实时荧光定量试剂盒进行表达量分析,用 SYBR PreMix 体系:cDNA 1  $\mu\text{L}$ , $2\times$ 耐热性 RNaseH(TliRNase H Plus) 10  $\mu\text{L}$ ,dd $\text{H}_2\text{O}$  8  $\mu\text{L}$ ,*FaWRKY70*-F 及 *FaWRKY70*-R 各 0.5  $\mu\text{L}$ ,进行

qRT-PCR,内参基因为 *FaActin*。反应程序:95  $^{\circ}\text{C}$ , 1 min;95  $^{\circ}\text{C}$ , 5 s;60  $^{\circ}\text{C}$ , 40 s,依次进行 40 个循环。*FaWRKY70* 相对表达量用  $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$  计算。试验进行 3 次生物学重复。

### 1.5 *FaWRKY70* 生物信息学分析

用 NCBI 网站的 ORFfinder 程序(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html>)在线分析开放阅读框,通过 NCBI Conserved Domain Search Service 在线分析蛋白序列的保守结构域<sup>[24]</sup>。用 ExPasy 数据库中的 ProtParam(<http://web.expasy.org/prot-param/>)进行 *FaWRKY70* 蛋白理化性质分析及预测<sup>[25]</sup>。用 EsPript(<https://espript.ibcp.fr/ESPript/cgi-bin/ESPript.cgi>)比对分析草莓 *FaWRKY70* 与其他物种 WRKY70 蛋白序列。用 ClustalX 软件进行多序列比对,然后将比对结果输入到 Megal1 软件中,用邻接法(neighbor-joining, NJ)构建系统发育树,自展值(bootstrap)取 1 000 次<sup>[26]</sup>。用 NetPhos3.1(<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/>)在线工具对草莓 *FaWRKY70* 蛋白进行潜在的磷酸化位点预测分析。用 SWISS-MODEL(<http://swissmodel.expasy.org>)进行同源建模,构建 *FaWRKY70* 的三级结构域模型<sup>[24]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 *FaWRKY70* 克隆分析

在前期对草莓 WRKY 转录因子家族生物信息学分析的基础上,预测得到 1 个与 *AtWRKY70* 密切相关的草莓 WRKY 基因,将该序列命名为 *FaWRKY70*,为 *FaWRKY70* 设计特异性引物,并以‘红颜’草莓果实 RNA 反转录产物为模板,扩增 *FaWRKY70* 基因序列并测序,结果(图 1)表明,*FaWRKY70* 基因序列全长为 1 020 bp,预测编码 339 个氨基酸。

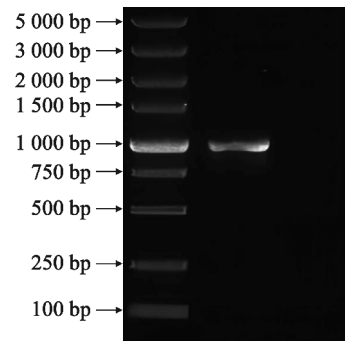


图 1 ‘红颜’*FaWRKY70* 基因 PCR 产物

Fig.1 The PCR product of *FaWRKY70* of ‘Benihoppe’

## 2.2 生物信息学分析

### 2.2.1 FaWRKY70 蛋白理化性质及磷酸化位点分析

用 NCBI Conserved domains 在线工具分析表明,该蛋白结构(图 2,A)第 152—212 位区域间有 1 个 WRKY 保守结构域,包含 61 个氨基酸。序列编

码蛋白质分子质量为 38.24 kD,理论等电点(pI)为 5.47,不稳定指数为 46.83,平均亲水性为 -0.763,属亲水性蛋白。

用 NetPhos 对该蛋白的磷酸化位点进行分析(图 2,B),发现 FaWRKY70 蛋白均具有丝氨酸(Ser)、苏氨酸(Thr)和酪氨酸(Tyr)磷酸化位点。

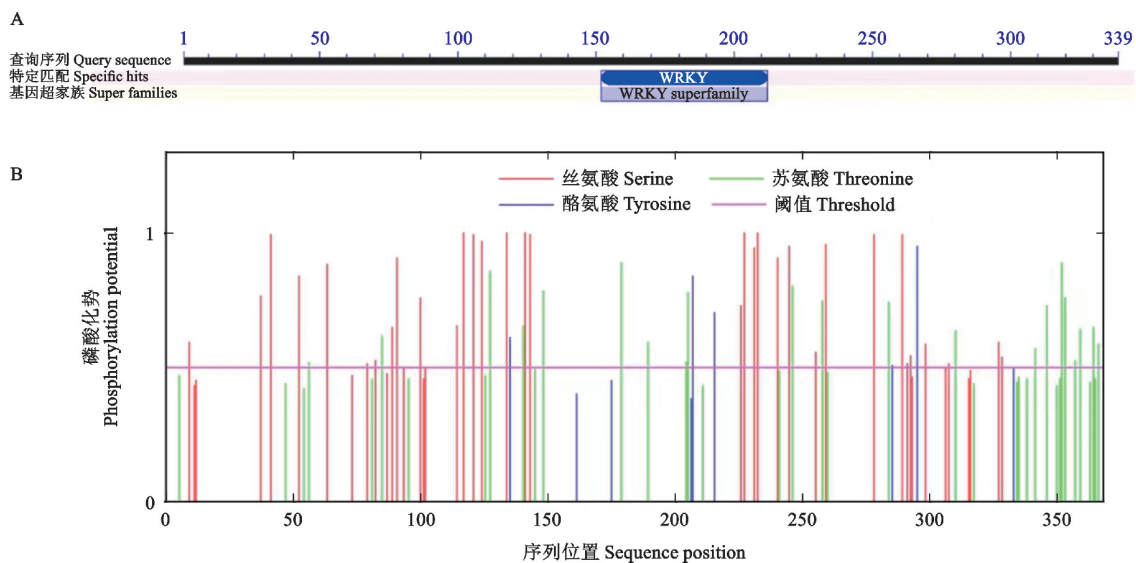


图 2 FaWRKY70 蛋白保守结构域分析(A)及磷酸化位点预测(B)

Fig. 2 Conserved domain analysis (A) and prediction of the phosphorylation site (B) of FaWRKY70 proteins

### 2.2.2 FaWRKY70 蛋白二级结构预测

FaWRKY70 蛋白二级结构预测结果显示该蛋白质  $\alpha$ -螺旋(Hh)为 79 个,占全部结构的 23.30%,延伸链(Ee)30 个,占全部结构的 8.85%,10 个  $\beta$ -转角(Tt),占全部结构的 2.95%,无规则卷曲有 220 个(Cc),占全部结构的 64.90%。

### 2.2.3 FaWRKY70 蛋白三级结构预测

用 SWISS MODEL 对 FaWRKY70 蛋白三级结构预测,并建立空间模型,结果(图 3)显示,该蛋白只有 1 个 WRKY 结构域,与蛋白质结构域分析的结果相吻合。



图 3 FaWRKY70 蛋白三级结构预测

Fig. 3 The tertiary structure prediction of the FaWRKY70 protein

与拟南芥 AtWRKY70 比较发现两者三级结构类似,推测其与拟南芥 WRKY70 有相似生物学功能。

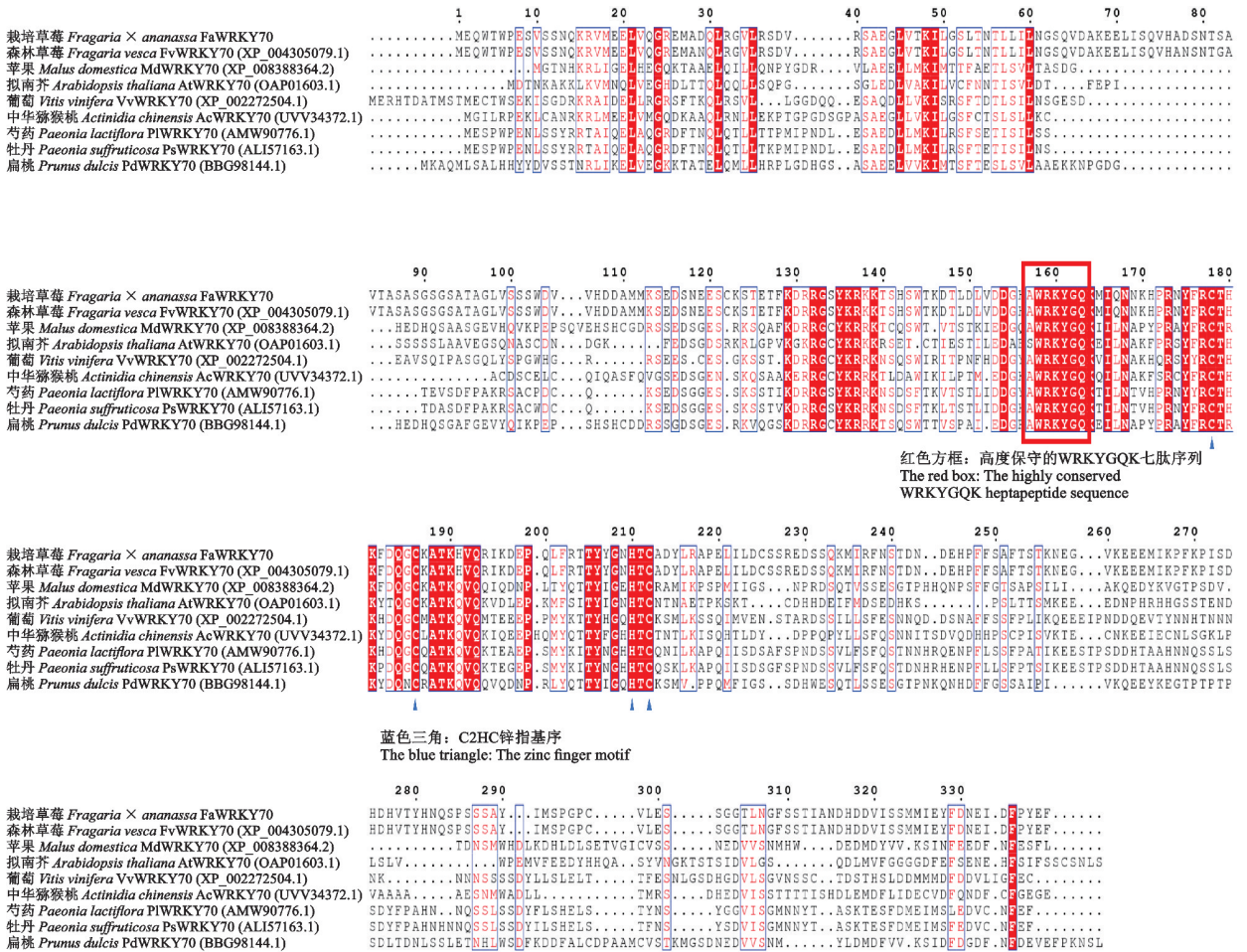
### 2.2.4 FaWRKY70 多重序列比对及进化聚类分析

通过蛋白序列比对结果(图 4)发现,FaWRKY70 与苹果、芍药、拟南芥、中华猕猴桃等物种同源蛋白质的氨基酸序列有明显相似性,均具有保守 WRKY 结构域,N 端有 1 个 WRKYGQK 保守结构域,C 端为 CX7CX24HXC(C2-HC)型锌指结构,属于 III 类 WRKY 转录因子,故推测其可能具有同源基因相似功能。

为进一步探究 FaWRKY70 功能,采用 Mega11 软件对 13 个物种的 WRKY70 蛋白序列进行系统进化分析并构建进化树。结果(图 5)显示,FaWRKY70 蛋白与牡丹、芍药等聚类为一组,与苹果、扁桃等亲缘关系较近,与森林草莓亲缘关系最近,说明 FaWRKY70 进化相对保守。

此外,比对得到的同源基因大多与植物对生物和非生物胁迫的响应相关,暗示 FaWRKY70 蛋白可能功能保守,推测其参与草莓抵御胁迫的过程。





红色区域为序列相同部分, 蓝框区域为 WRKY 结构域。

图 4 *FaWRKY70* 与多种 WRKY70 氨基酸序列多重比对分析

The red areas represent the same part of the sequence. The blue box areas are the WRKY domain.

Fig. 4 Multiple alignment of amino acid sequences of *FaWRKY70* and WRKY70s from different species

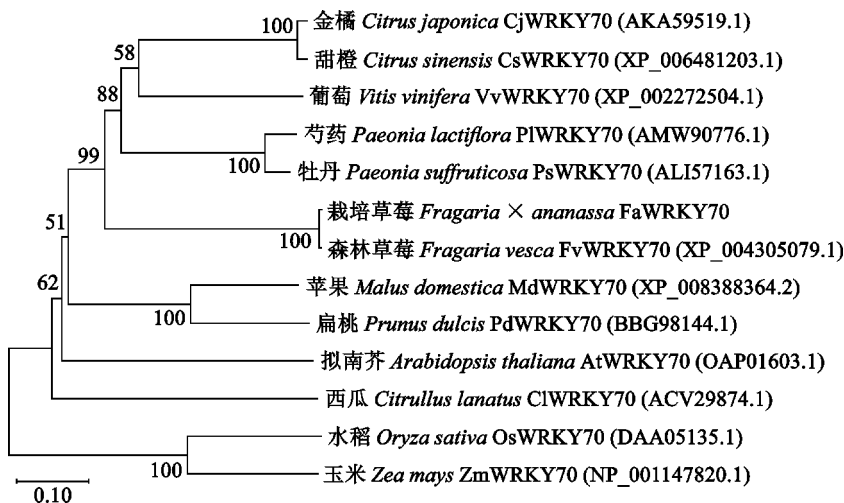


图 5 “红颜”*FaWRKY70* 蛋白系统进化树分析

Fig. 5 Phylogenetic tree analysis of the *FaWRKY70* protein in ‘Benihoppe’

### 2.3 *FaWRKY70* 组织表达特异性分析

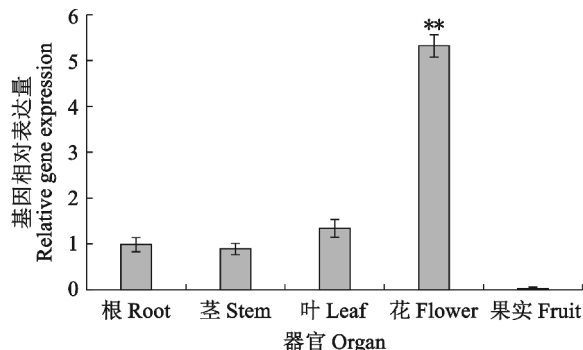
测定 *FaWRKY70* 在草莓根、茎、叶、花、果实等 5 个器官中的组织表达情况。荧光定量结果(图 6)显示, *FaWRKY70* 基因在草莓不同组织中均有表达, 在花中表达水平最高, 而在草莓果实中最低。说明 *FaWRKY70* 表达具有组织表达特异性。

### 2.4 *FaWRKY70* 在果实不同发育期表达特异性分析

草莓果实不同发育时期 *FaWRKY70* 基因相对表达量进行分析, 结果(图 7)表明, *FaWRKY70* 基因在中绿果时期相对表达量最高, 显著高于其他发育期基因表达量。

### 2.5 激素处理下 *FaWRKY70* 表达模式

与 CK 相比(图 8), *FaWRKY70* 在 SA 处理 0.5 h 后表达量逐渐上升, 3 h 后相对表达量升高近 5 倍, 呈极显著上调趋势。



\*\* 表示在 0.05 水平差异显著。下同。

图 6 *FaWRKY70* 基因组织表达

\*\* indicates significant difference at the 0.05 levels, respectively. The same as below.

Fig. 6 Expression of the *FaWRKY70* gene in different tissues

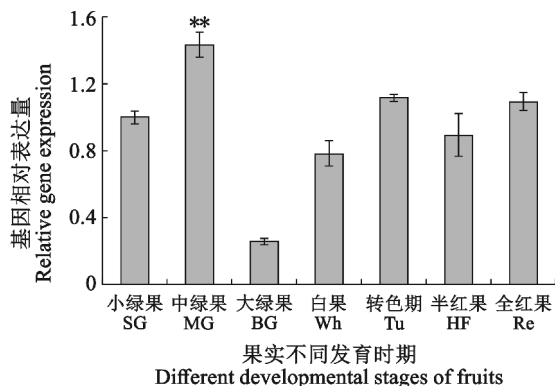


图 7 *FaWRKY70* 在果实不同发育期表达

Fig. 7 Expression of the *FaWRKY70* gene at different fruit development stages

在处理 6 h 后, 相对表达量逐渐下降, 说明 *FaWRKY70* 在处理 6 h 内持续被 SA 诱导, 但诱导作用主要发生于早期, 在处理 24 h 后诱导效果极弱。MeJA 处理下, *FaWRKY70* 相对表达量变化相对较小, 在 3 h 后相对表达量出现下降的趋势, 在处理 24 h 后, 相对表达量达到最低, 转录水平整体表现下调, 说明 MeJA 抑制 *FaWRKY70* 基因表达。

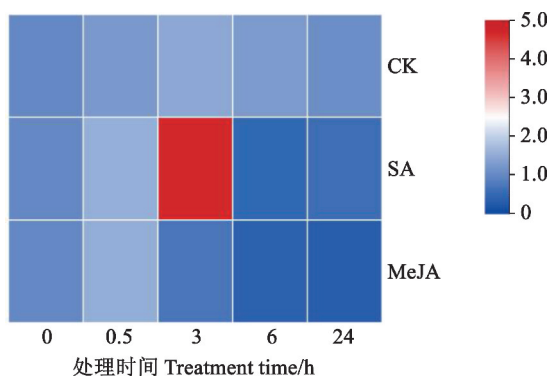


图 8 SA 及 MeJA 处理下 *FaWRKY70* 基因表达

Fig. 8 Expression of the *FaWRKY70* gene under SA and MeJA treatment

## 3 讨论

有研究指出: WRKY 家族成员参与植物对病原体的防御过程、非生物胁迫响应、激素调控路径及生长发育等生理生化反映<sup>[7, 26-27]</sup>。而 *WRKY70* 在森林草莓和八倍体栽培草莓中的功能鲜见报道, 这对进一步研究 *FaWRKY70* 基因功能带来了极大不便。 *FaWRKY70* 与其他物种同源基因比对发现, 多为植物响应生物和非生物胁迫的关键基因, 暗示 *FaWRKY70* 蛋白可能功能保守。因此, 草莓 *WRKY* 基因功能研究往往参考其他同源及同亚族基因展开。研究表明, 猕猴桃 *AcWRKY70* 和小麦 *TaWRKY70* 均在叶中特异性表达, 巨桉 *EgrWRKY70* 主要在花与叶中表达<sup>[28-30]</sup>。同为 *WRKY* III 的蜡梅 *CpWRKY46*, 在花蕾期及露瓣期有微弱表达, 随着花朵开放, *CpWRKY46* 基因表达量逐渐增加, 在花朵初衰期表达量最高; 过量表达野生大豆 *GsWRKY20* 能促使拟南芥提前开花<sup>[31-32]</sup>。草莓 *FaWRKY70* 在不同组织中的表达水平分析结果表明: *FaWRKY70* 在花中特异性表达, 而多数 *WRKY* 转录因子是开花途径关键基因, 因此推测 *FaWRKY70* 在草莓花的发育中起重要调控作用。

*WRKY* 转录因子成员多为植物对逆境胁迫响

应的关键基因。如雷霆等<sup>[33]</sup>对茺菁 WRKY III 亚族响应环境胁迫表达谱分析发现,其多数成员参与 JA 和 SA 介导的植物对病原菌胁迫的响应过程。拟南芥接种丁香假单胞菌等病原菌后, *AtWRKY46* 和 *AtWRKY70* 表达量显著上调,可通过激活 SA 介导的植物免疫系统形成对病原体的特异性防卫反应<sup>[14,34]</sup>;葡萄 *VvWRKY46* 与下游靶基因 *VvCHIB* 特异性结合,在 SA 诱导下防御根瘤蚜反应中发挥积极作用<sup>[21]</sup>;棉花 *GhWRKY70* 通过抑制 JA 信号路径负调控对黄萎病的抗性<sup>[35]</sup>。本研究中,外源 SA 处理后 *FaWRKY70* 基因上调表达,而 JA 处理后表达水平下调,该结果与葡萄 *VvWRKY46* 和棉花 *GhWRKY70* 研究结果一致,表明 *FaWRKY70* 基因受 SA 和 JA 调控,推测其可能具有相似功能,

但这些推论仍需进一步试验验证。

## 4 结 论

研究从草莓果实中扩增获得 1 条 WRKY 同源基因,命名为 *FaWRKY70*。*FaWRKY70* 基因编码区(CDS)序列长度为 1 020 bp,共编码 339 个氨基酸,序列包含 1 个完整的 WRKY 结构域,属于 WRKY III 转录因子。不同器官特异性表达结果表明:该基因主要在草莓花中表达,推测其与草莓成花相关。不同发育期表达水平显示:*FaWRKY70* 基因在中绿果时期相对表达量最高。此外,*FaWRKY70* 对 SA 及 JA 处理均有响应,其中 SA 强烈诱导 *FaWRKY70* 的表达,而 JA 轻微诱导,表明 *FaWRKY70* 是植物激素初期信号转导过程中的重要成员。

## 参考文献:

- [1] KUMAR R, KHURANA A, SHARMA A K. Role of plant hormones and their interplay in development and ripening of fleshy fruits[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2014, 65(16): 4561-4575.
- [2] SYMONS G M, CHUA Y J, ROSS J J, et al. Hormonal changes during non-climacteric ripening in strawberry [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 63(13): 4741-4750.
- [3] BAKSHI M, OELMÜLLER R. WRKY transcription factors: Jack of many trades in plants[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2014, 9(2): e27700.
- [4] 杜萍, 吴庆莲, 伊文一, 等. 茎用莴苣 2 个 WRKY III 亚族转录因子基因的克隆与表达[J]. *西北植物学报*, 2022, 42(10): 1644-1653.
- [5] DU P, WU Q L, YI W Y, et al. Cloning and expression of two WRKY III subfamily transcription factor genes from asparagus lettuce[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2022, 42(10): 1644-1653.
- [6] JIANG J J, MA S H, YE N H, et al. WRKY transcription factors in plant responses to stresses[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2017, 59(2): 86-101.
- [7] KUMAR K, SRIVASTAVA V, PURAYANNUR S, et al. WRKY domain-encoding genes of a crop legume chickpea (*Cicer arietinum*): Comparative analysis with *Medicago truncatula* WRKY family and characterization of group-III gene(s) [J]. *DNA Research*, 2016, 23(3): 225-239.
- [8] WANG D J, WANG L, SU W H, et al. A class III WRKY transcription factor in sugarcane was involved in biotic and abiotic stress responses[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): 20964.
- [9] WANI S H, ANAND S, SINGH B, et al. WRKY transcription factors and plant defense responses: Latest discoveries and future prospects[J]. *Plant Cell Reports*, 2021, 40(7): 1071-1085.
- [10] 周涛, 王娟, 胡佳蕙, 等. 番茄转录因子基因 *SlWRKY6* 的克隆与原核表达分析[J]. *西北植物学报*, 2020, 40(11): 1824-1832.
- [11] ZHOU T, WANG J, HU J H, et al. Cloning and prokaryotic expression analysis of a WRKY transcription factor gene *SlWRKY6* in *Solanum lycopersicum* [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2020, 40(11): 1824-1832.
- [12] ZHENG J Y, LIU F, ZHU C H, et al. Identification, expression, alternative splicing and functional analysis of pepper WRKY gene family in response to biotic and abiotic stresses [J]. *PLoS One*, 2019, 14(7): e0219775.
- [13] IMRAN Q M, HUSSAIN A, MUN B G, et al. Transcriptome wide identification and characterization of NO-responsive WRKY transcription factors in *Arabidopsis thaliana* L. [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2018, 148: 128-143.
- [14] YANG X Z, LI H, YANG Y C, et al. Identification and expression analyses of WRKY genes reveal their involvement in growth and abiotic stress response in watermelon (*Citrullus lanatus*) [J]. *PLoS One*, 2018, 13(1): e0191308.
- [15] KIM K C, LAI Z B, FAN B F, et al. *Arabidopsis* WRKY38 and WRKY62 transcription factors interact with histone deacetylase 19 in basal defense[J]. *The Plant Cell*, 2008, 20(9): 2357-2371.
- [16] HU Y R, DONG Q Y, YU D Q. *Arabidopsis* WRKY46 coordinates with WRKY70 and WRKY53 in basal resistance against pathogen *Pseudomonas syringae* [J]. *Plant Science*, 2012, 185-186: 288-297.
- [17] CHEN S Y, DING Y L, TIAN H N, et al. WRKY54 and WRKY70 positively regulate *SARD1* and *CBP60g* expres-

- sion in plant immunity[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2021, 16(10): 1932142.
- [16] JIANG C H, HUANG Z Y, XIE P, *et al.* Transcription factors WRKY70 and WRKY11 served as regulators in rhizobacterium *Bacillus cereus* AR156-induced systemic resistance to *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000 in *Arabidopsis* [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2016, 67(1): 157-174.
- [17] 李胜男, 秦智伟, 辛明, 等. 霜霉威胁下黄瓜 CsWRKY30 表达及功能分析[J]. 中国农业科学, 2016, 49(7): 1277-1288. LI S N, QIN Z W, XIN M, *et al.* Expression and functional analysis of CsWRKY30 in cucumber under propamocarb stress[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2016, 49(7): 1277-1288.
- [18] WU Y, FU Y, ZHU Z, *et al.* The mediator subunit OsMED16 interacts with the WRKY transcription factor OsWRKY45 to enhance rice resistance against *magnaporthe oryzae* [J]. *Rice* (N Y). 2024, 17(1): 23.
- [19] CHUJO T, MIYAMOTO K, OGAWA S, *et al.* Overexpression of phosphomimic mutated OsWRKY53 leads to enhanced blast resistance in rice[J]. *PLoS One*. 2014, 9(6): e98737.
- [20] CHEN J N, NOLAN T M, YE H X, *et al.* *Arabidopsis* WRKY46, WRKY54, and WRKY70 transcription factors are involved in brassinosteroid-regulated plant growth and drought responses[J]. *The Plant Cell*, 2017, 29(6): 1425-1439.
- [21] WANG F P, ZHAO P P, ZHANG L, *et al.* Functional characterization of WRKY46 in grape and its putative role in the interaction between grape and phylloxera (*Daktulosphaira vitifoliae*) [J]. *Horticulture Research*, 2019, 6: 102.
- [22] LI J, ZHONG R S, PALVA E T. WRKY70 and its homolog WRKY54 negatively modulate the cell wall-associated defenses to necrotrophic pathogens in *Arabidopsis* [J]. *PLoS One*, 2017, 12(8): e0183731.
- [23] LONG L, XU F C, ZHAO J R, *et al.* GbMPK3 overexpression increases cotton sensitivity to *Verticillium dahliae* by regulating salicylic acid signaling [J]. *Plant Science*, 2020, 292: 110374.
- [24] 于永昂, 张蕾. 小麦 TaWRKY47 基因的克隆与表达分析 [J]. 西北植物学报, 2020, 40(9): 1475-1482. YU Y A, ZHANG L. Cloning and expression analysis of TaWRKY47 gene in wheat [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2020, 40(9): 1475-1482.
- [25] 卓娟, 侯丹, 林新春. 毛竹 *PhebHLH6* 基因克隆及表达分析 [J]. 浙江农林大学学报, 2023, 40(4): 731-737. ZHUO J, HOU D, LIN X C. Cloning and expression analysis of *PhebHLH6* gene from *Phyllostachys edulis* [J]. *Journal of Zhejiang A & F University*, 2023, 40(4): 731-737.
- [26] KUNDU P, VADASSERY J. Role of WRKY transcription factors in plant defense against lepidopteran insect herbivores: An overview [J]. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 2021, 30(4): 698-707.
- [27] ROSADO D, ACKERMANN A, SPASSIBOJKO O, *et al.* WRKY transcription factors and ethylene signaling modify root growth during the shade-avoidance response [J]. *Plant Physiology*, 2022, 188(2): 1294-1311.
- [28] 曲东, 燕飞, 刘欣瑞, 等. 猕猴桃 *AcWRKY70* 基因序列克隆及其对溃疡病原菌和激素处理表达模式分析 [J]. 华北农学报, 2022, 37(5): 166-173. QU D, YAN F, LIU X R, *et al.* Cloning and expression analysis of *AcWRKY70* gene sequence under psa and hormone treatment in kiwifruit [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2022, 37(5): 166-173.
- [29] WANG J J, TAO F, AN F, *et al.* Wheat transcription factor TaWRKY70 is positively involved in high-temperature seedling plant resistance to *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* [J]. *Molecular Plant Pathology*, 2017, 18(5): 649-661.
- [30] 姚海荣, 曾炳山, 范春节, 等. 巨桉 *EgrWRKY70* 基因克隆和初步表达分析 [J]. 热带作物学报, 2016, 37(7): 1341-1348. YAO H R, ZENG B S, FAN C J, *et al.* Cloning and expression analysis of *EgrWRKY70* in *Eucalyptus grandis* [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2016, 37(7): 1341-1348.
- [31] 黄仁维. 蜡梅 *CpWRKY46* 和 *CpWRKY71* 基因的克隆及功能分析 [D]. 重庆: 西南大学, 2020.
- [32] LUO X, SUN X L, LIU B H, *et al.* Ectopic expression of a WRKY homolog from *Glycine soja* alters flowering time in *Arabidopsis* [J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e73295.
- [33] 雷霆, 刘莹, 周晓青, 等. 芜菁 WRKY group III 家族鉴定及其对根肿病菌和激素的响应 [J]. 植物病理学报, 2023, 53(2): 245-257. LEI T, LIU Y, ZHOU X Q, *et al.* Identification of WRKY group III family and the response to *Plasmodiophora brassicae* and hormone in turnip [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2023, 53(2): 245-257.
- [34] LI J, ZHONG R, PALVA ET. WRKY70 and its homolog WRKY54 negatively modulate the cell wall-associated defenses to necrotrophic pathogens in *Arabidopsis* [J]. *PLoS One*. 2017, 12(8): e0183731.
- [35] XIONG X P, SUN S C, ZHANG X Y, *et al.* GhWRKY70D13 regulates resistance to *Verticillium dahliae* in cotton through the ethylene and jasmonic acid signaling pathways [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 69.