

## 党参中 WRKY 转录因子家族的鉴定及表达分析

王春辉<sup>1,2</sup>, 宋敏<sup>1</sup>, 范潘慧<sup>2,3</sup>, 万会花<sup>2</sup>, 王飞飞<sup>4</sup>, 孙伟<sup>2</sup>, 曹雪<sup>2\*</sup>, 马静<sup>1\*</sup>

1. 青岛农业大学园艺学院 山东省园艺作物基因改良工程实验室, 山东 青岛 266109

2. 中国中医科学院中药研究所 道地药材品质保障与资源持续利用全国重点实验室, 北京 100700

3. 中国医学科学院 北京协和医学院药用植物研究所 国家中医药管理局中药资源保护重点研究室, 北京 100193

4. 云南特色植物提取实验室有限公司, 云南 昆明 650106

**摘要:**目的 在全基因组水平, 鉴定党参 *Codonopsis pilosula* WRKY 转录因子家族成员, 分析党参 WRKY 转录因子家族的特征, 并探讨其在盐胁迫响应中的潜在作用, 为研究党参 WRKY 转录因子功能奠定基础。方法 利用隐马尔可夫模型基于蛋白质保守结构域在全基因组范围内进行筛选潜在基因家族成员。利用 MAFFT、IQ-TREE 软件、MEME 在线工具、Plant CARE 和 TBtools 等完成蛋白序列比对、保守结构域、进化树分析、基因共线性情况和启动子区顺式作用元件分析。基于根、茎、叶和花不同组织的转录组数据分析 WRKY 基因的表达模式, 并利用 qRT-PCR 进行 WRKY 基因相对表达量分析, 另外结合党参在 0、60、120 mmol/L NaCl 处理的转录组数据分析 WRKY 基因在盐胁迫条件下的表达变化。结果 从党参中鉴定到 50 个 WRKY 转录因子成员, 蛋白基序分析显示其均有典型的 WRKY 结构域 WRKYGQK, 与拟南芥和水稻的 WRKY 转录因子构建系统进化树, 将党参 50 个 WRKY 转录因子分为 3 组, 其中第 2 大组可分为 5 个亚群。党参 WRKY 成员编码的氨基酸长度在 103~986 氨基酸之间, 等电点为 4.87~9.99, 相对分子质量为 12 435.14~107 946.28。基因表达结果表明党参 WRKY 基因中 *CpWRKY26*、*CpWRKY48*、*CpWRKY2*、*CpWRKY49* 在党参根、茎、叶和花中的表达水平具有显著差异性。盐胁迫处理结果表明, 多数 *CpWRKY* 基因在不同浓度 NaCl 处理下呈现差异表达趋势, 其中部分成员与已报道的抗盐 WRKY 基因在系统发育上聚类, 提示其可能参与党参盐胁迫响应调控。结论 首次从全基因组水平对党参 WRKY 基因家族进行系统鉴定和生物信息学分析, 并结合组织表达与盐胁迫响应分析揭示了党参 WRKY 基因可能参与党参生长发育、次生代谢物质生物合成及胁迫响应等生理过程, 为深入研究党参 WRKY 基因的功能及其在药用成分调控中的作用机制奠定了理论基础, 并为党参分子辅助育种提供了基因资源和科学依据。

**关键词:** 党参; WRKY 转录因子; 全基因组鉴定; 盐胁迫; 功能分析

中图分类号: R282.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)10-3940-14

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.10.022

## Identification and expression analysis of WRKY transcription factor family in *Codonopsis pilosula*

WANG Chunhui<sup>1, 2</sup>, SONG Min<sup>1</sup>, FAN Panhui<sup>2, 3</sup>, WAN Huihua<sup>2</sup>, WANG Feifei<sup>4</sup>, SUN Wei<sup>2</sup>, CAO Xue<sup>2</sup>, MA Jing<sup>1</sup>

1. Engineering Laboratory of Genetic Improvement of Horticultural Crops of Shandong Province, College of Horticulture, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China

2. Key Laboratory for Quality Ensurance and Sustainable Use of Dao-di Herbs, China Academy of Chinese Medical Sciences, Institute of Chinese Materia Medica, Beijing 100700, China

3. Key Research Laboratory of Chinese Medicinal Resources Conservation, National Administration of Traditional Chinese Medicine, Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

4. Yunnan Characteristic Plant Extraction Laboratory Co., Ltd., Kunming 650106, China

收稿日期: 2026-01-03

基金项目: 国家重点研发计划项目(2022YFC3501703); 云南特色植物提取实验室开放研究项目基金资助(YKKF2024020)

作者简介: 王春辉, 硕士研究生, 研究方向为生物信息学。E-mail: 20232107003@stu.qau.edu.cn

\*通信作者: 马静, 博士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为植物次生代谢合成与调控。E-mail: jma@qau.edu.cn

曹雪, 副研究员, 研究方向为药用植物资源。E-mail: xcao@icmm.ac.cn

**Abstract: Objective** To identify members of the WRKY transcription factor family in *Codonopsis pilosula* at the genome-wide level and analyze their characteristics, and explore their potential roles in response to salt stress, thereby laying a foundation for functional studies of *C. pilosula* WRKY transcription factors. **Methods** Potential gene family members were screened across the entire genome based on conserved protein domains using the Hidden Markov model (HMM). Protein sequence alignment, conserved domain analysis, phylogenetic tree construction, gene synteny analysis, and *cis*-acting element analysis in the promoter region were performed using software and online tools including MAFFT, IQ-TREE, MEME, Plant CARE and TBtools. Expression patterns of *WRKY* genes were analyzed based on transcriptome data from different tissues (roots, stems, leaves, and flowers) and qRT-PCR was used to determine their relative expression levels. In addition, the transcriptome data of *C. pilosula* treated with 0, 60, and 120 mmol/L NaCl were analyzed to examine the expression changes of *WRKY* genes under salt stress. **Results** A total of 50 WRKY transcription factor members were identified in *C. pilosula*. Motif analysis showed that all members contained the typical WRKY domain with the conserved sequence WRKYGQK. Phylogenetic analysis with WRKY transcription factors from *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa* classified the 50 *C. pilosula* WRKY transcription factors into three groups, with group II further divided into five subgroups. The amino acid lengths of the identified WRKY proteins ranged from 103 to 986 residues, with isoelectric points (pI) of 4.87–9.99 and molecular weights (MW) of 12 435.14–107 946.28. Gene expression analysis revealed significant differences in the expression levels of *CpWRKY26*, *CpWRKY48*, *CpWRKY2*, and *CpWRKY49* among roots, stems, leaves, and flowers of *C. pilosula*. The results of salt stress treatment indicated that most *CpWRKY* genes showed differential expression trends under different concentrations of NaCl, and some members cluster phylogenetically with previously reported salt-tolerant *WRKY* genes, suggesting that they may be involved in the regulation of *C. pilosula* salt stress responses. **Conclusion** This study represents the first systematic identification and bioinformatics analysis of the *WRKY* gene family in *C. pilosula* at the genome-wide level. By combining tissue expression and salt stress response analyses, the study reveals that the *WRKY* genes in *C. pilosula* may be involved in physiological processes such as growth and development, secondary metabolite biosynthesis, and stress responses. This lays a theoretical foundation for further research on the functions of *WRKY* genes and their roles in regulating medicinal components, and provides gene resources and scientific evidence for molecular-assisted breeding of *C. pilosula*.

**Key words:** *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf.; WRKY transcription factor; genome-wide identification; salt stress; functional analysis

党参是我国传统大宗药材之一，为桔梗科植物党参 *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf.、素花党参 *C. pilosula* Nannf. var. *modesta* (Nannf.) L. T. Shen 或川党参 *C. tangshen* Oliv 的干燥根，其性甘味平，归肺、脾经，具有补中益气、生津止渴、健脾益肺的传统功效，是《中国药典》2025年版收录的经典补气药<sup>[1]</sup>。同时作为药食同源中药材品种，党参在药膳食疗领域应用广泛，常被用于熬煮药膳、冲泡饮用，以调理气虚乏力、增强免疫力等<sup>[2]</sup>。其主要活性成分有党参多糖、炔萜、生物碱、黄酮类化合物。现代药理研究表明党参在降血糖、抗炎、抗衰老、改善认知障碍、提高免疫力等方面功效显著<sup>[3-4]</sup>。凭借明确的药效与广泛的应用场景，党参市场需求量大，经济效益良好。党参栽培区域主要分布在山西、陕西、甘肃、四川等地，其中甘肃陇西、渭源，山西长治、壶关等地以党参为主栽品种<sup>[5-6]</sup>。

WRKY 转录因子是植物中最大的转录调节因子家族之一，因核心保守结构域中含 WRKYGQK 氨基酸序列而得名<sup>[7-8]</sup>。其分子结构包含 1~2 个 WRKY 结构域和特定类型的锌指基序 (C2H2 或 C2HC 型)<sup>[9]</sup>，据此可分为 3 大类：I类含 2 个 WRKY

结构域，II类和III类各含 1 个结构域，其中II类进一步分为 5 个亚族 (IIa~IIe)<sup>[7,10-11]</sup>。WRKY 家族成员数量在植物中差异显著，如拟南芥含 72 个成员<sup>[12]</sup>，水稻中有 102 个成员<sup>[13]</sup>，大豆中有 185 个成员<sup>[14]</sup>，番茄中有 81 个成员<sup>[15]</sup>，这种变化可能与植物适应环境胁迫的进化需求密切相关。WRKY 转录因子通过识别靶基因启动子中的 W-box (TTGAC [C/T]) 顺式作用元件<sup>[16-17]</sup>，激活或抑制下游基因表达，形成复杂的调控网络，其功能具有多样性。例如，在青蒿中 AaWRKY17 通过与青蒿素生物合成途径基因 *amorpha-4,11-diene synthase* (*ADS*) 启动子区的 W-box 基序结合，促进其表达，可显著提高青蒿素含量<sup>[18]</sup>；拟南芥中水杨酸的合成是通过 AtWRKY28 与 *ICS1* 基因启动子的结合来激活 *ICS1* 的表达<sup>[19]</sup>；AtWRKY53 可以负向调节拟南芥的耐旱性<sup>[20]</sup>；SbWRKY55 可以负向调节高粱的耐盐性<sup>[21]</sup>。

近年来，土壤盐渍化已成为制约植物产量与品质的重要非生物胁迫因素之一<sup>[22]</sup>。盐胁迫可引起植物体内离子毒害、渗透失衡及氧化损伤，从而影响生长发育及次生代谢物质积累<sup>[23-24]</sup>。值得注意的是拟南芥中 AtWRKY46、AtWRKY66 可以正向调节耐

盐性<sup>[25-26]</sup>, 水稻中的 *OsWRKY45-2* 对盐胁迫呈负向调控作用<sup>[27]</sup>, *OsWRKY50*、*OsWRKY54* 对盐胁迫呈正向调控作用<sup>[28-29]</sup>, 上述拟南芥和水稻中的 WRKY 成员均隶属于 WRKY 转录因子第 3 组, 表明该亚家族在植物干旱及盐胁迫耐受性调控中扮演关键角色<sup>[30]</sup>, 尽管 WRKY 基因家族在多种模式植物和经济作物中已有报道, 但其在药用植物党参中的盐胁迫响应机制尚未见系统研究, 本实验通过对党参盐胁迫处理条件下的表达数据, 对党参 WRKY 家族成员在逆境响应中的潜在功能进行分析, 为后续深入探究药用植物中 WRKY III 类成员的抗逆调控机制提供了重要参考。

本研究首次在全基因组水平对党参 WRKY 基因家族进行了系统鉴定和分析, 完成了蛋白序列比对、保守结构域、进化树分析、基因共线性情况和启动子区顺式作用元件分析, 并基于根、茎、叶和花不同组织的转录组数据分析了 WRKY 基因的表达模式, 利用 qRT-PCR 进行了 WRKY 基因相对表达量分析, 并结合盐胁迫转录组数据分析了 *CpWRKY* 基因在逆境条件下的表达响应特征, 为深入研究党参 WRKY 基因家族的功能及其在药用成分生物合成中的调控作用奠定了基础。

## 1 材料

本实验药材经青岛农业大学马静副教授鉴定为桔梗科植物党参 *C. pilosula* (Franch.) Nannf.

## 2 方法

### 2.1 党参 WRKY 基因家族成员及理化性质鉴定

党参的全基因组数据<sup>[31]</sup>从国家生物信息中心下载 (<https://ngdc.cncb.ac.cn/>) 项目编号为 PRJCA029124, 登录号为 GWHFAJJ00000000.1。拟南芥 WRKY 蛋白序列数据集来自 TAIR 数据库 (<https://www.arabidopsis.org/>)。利用 TBtools<sup>[32]</sup>进行党参和拟南芥的双向 blast 筛选党参中的 WRKY 蛋白序列, 然后通过 Pfam 数据库 (<http://pfam.xfam.org/>) 利用隐马尔可夫模型 (hidden markov model, HMM) 对党参基因组中的 WRKY 蛋白序列进一步筛选。在 HMM 配置文件中, 参数为默认值, 截止值为 0.01, 最后合并 blast 与 HMM 的结果, 去除其中重复的蛋白序列, 以获得党参 WRKY 转录因子家族的候选蛋白序列。使用 TBtools 软件的 Protein Paramter Calc 工具 (基于 ExPASy ProtParam 算法) 对党参 WRKY 蛋白理化性质进行预测, 运用 WoLF PSORT (<https://wolfsort.hgc.jp/>) 网站对党参 WRKY 基因进行亚细胞定位。

### 2.2 党参 WRKY 基因家族系统进化分析

以拟南芥、水稻和党参中的 WRKY 家族成员为研究对象, 基于 MAFFT v7.450 对氨基酸序列进行比对, 使用序列修剪软件 trimAl v1.5.rev0 对上述比对结果进行质量过滤, 使用最大似然法 (maximum Likelihood, ML) 建树软件 IQ-TREE v2.4.0, 基于修剪后的序列构建 WRKY 基因家族系统发育树, 并利用 iTOL 在线工具进一步对系统发育树进行美化。

### 2.3 党参 WRKY 基因家族保守基序和基因结构分析及顺式作用元件预测

通过 MEME 数据库 (<https://web.mit.edu/meme/current/share/doc/meme.html>) 对 *CpWRKY* 的蛋白保守基序进行预测, 数量设置为 10 个, 其他参数设置为默认值。使用 NCBI 中 CDD 在线网站 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd>) 对 *CpWRKY* 的蛋白结构域进行预测。使用 TBtools 软件将蛋白保守基序、保守结构域可视化作图。从党参基因组序列和基因组结构注释文件中提取 50 个 *CpWRKY* 基因上游 2 000 bp 序列作为启动子区域。然后通过 PlantCare (<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 对启动子区的顺式作用元件进行预测, 使用 TBtools 将预测结果进行可视化作图。

### 2.4 党参 WRKY 基因染色体定位和种内及种间共线性分析

使用 TBtools 软件分析党参的基因组注释文件, 提取每个 *CpWRKY* 基因在染色体上的位置信息并进行可视化绘制。利用 TBtools 软件获得党参染色体 ID 及长度信息, 使用 TBtools 插件 One Step MCScanX-Super Fast 得到 *CpWRKY* 基因之间的共线性文件, 并在 Advanced Circos 工具中将 *CpWRKY* 基因的种内共线性关系可视化。从 NCBI 网站下载拟南芥、水稻、桔梗的全基因组数据, 使用 TBtools 分别将拟南芥、水稻、桔梗和党参的全基因组进行比对获得种间共线性关系, 并进行可视化处理。

### 2.5 党参 WRKY 基因在根、茎、叶和花中的差异表达分析

基于前期本课题组于公司测序获得的党参根、茎、叶、花的转录组数据, 利用 FeatureCounts 计算 *CpWRKY* 基因的表达量 (FPKM), 并运用 TBtools 软件绘制热图, 进行基因聚类 and 差异表达模式分析。根据 RNAseq 数据, 选取 *CpWRKY26*、*CpWRKY48*、*CpWRKY2*、*CpWRKY49* 进行 qRT-PCR 验证分析, 内参基因为 *Cp05G000462.t1*。使用 FastPure

Cell/Tissue Total RNA Isolation Kit V2 (RC112-01, Vazyme) 试剂盒对党参的根、茎、叶、花进行 RNA 提取; 用 TransScript® One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis SuperMix (AT311, TransGen) 试剂盒反转录得到对应组织的 cDNA, 所有操作同试剂盒说明书。利用 Primer Select 软件设计引物 (表 1), 用赛

默飞 QX200PCR 仪, 2×ChamQ SYBR qPCR Master mix (Q321-02-A, Vazyme) 试剂盒, 15 μL 的反应体系: 7.5 μL 酶, 引物各 0.4 μL, cDNA 1 μL, 水 5.7 μL。进行 qRT-PCR 分析, 反应程序为 95 °C 预变性 3 min, 95 °C 变性 10 s, 60 °C 退火 15 s, 72 °C 延伸 15 s, 循环 40 次。

表 1 qRT-PCR 引物

Table 1 Primers for qRT-PCR

引物	正向 (5'-3')	反向 (3'-5')	长度/bp
<i>CpWRKY26</i>	CGCTCTTCACGAGCCAGACG	GCATCGTGGAACATGTGGACTC	129
<i>CpWRKY48</i>	TAAGGACTTGGGCACTTGTGAGG	AGGTGGTGAATAACTCCCAATGAA	157
<i>CpWRKY2</i>	TATATGAAGGAAAGCACAAATCACAAA	GTGGATTCCATCGTCATATCTGAAC	127
<i>CpWRKY49</i>	TGAGCTCAGTATCTCCAGTCCTGC	CTCTGAACTGCTGCCCTCCAG	150
<i>Cp05G000462.t1</i>	GGGGATGAGGCTCAGTCTAAGC	TCTGGAGCCACACGGAGTTCAT	135

## 2.6 党参 WRKY 基因在盐胁迫处理下的差异表达分析

所用盐胁迫转录组数据来源于本课题组前期研究成果。试验材料为一年生党参植株。将种子播种后, 于发芽阶段移栽至育苗盆中培养, 当幼苗生长至 3 片真叶期时, 选取生长一致、健壮无病害的植株进行盐胁迫处理。试验前对所有植株给予充足水分以保证其正常生长状态。将植株随机分为 3 组: 对照组 (CK, 0 mmol/L NaCl) 及 2 个盐胁迫处理组 (S1, 60 mmol/L NaCl; S2, 120 mmol/L NaCl)。处理 18 d 后分别采集各组党参根部组织, 每个处理设置 3 个生物学重复。采样后用去离子水快速洗净表面附着物, 吸干水分后立即用液氮速冻, 并置于 -80 °C 保存备用。

样品由测序公司完成 RNA 提取、文库构建及 Illumina 高通量测序。获得的原始测序数据经质量控制后, 进行基因表达量定量分析。利用 FeatureCounts 计算 *CpWRKY* 基因的表达量 (FPKM)。基于 CK 与 S1、CK 与 S2 之间的表达数据进行差异表达分析, 筛选差异表达 *WRKY* 基因。随后选取在 2 种盐处理条件下均表现为差异表达的 8 个 *WRKY* 基因用于后续分析。利用 TBtools 软件对 *CpWRKY* 基因在不同处理条件下的表达模式进行可视化展示, 并绘制热图进行聚类分析。同时, 将筛选获得的差异表达 *WRKY* 基因与已报道的参与植物非生物胁迫相关 *WRKY* 蛋白序列构建系统发育树, 以推测其潜在功能。系统发育树构建方法同

“2.2” 项所述, 系统发育树美化采用在线网站 (<https://www.chiplot.online/>)<sup>[33]</sup>, 韦恩图构建方法采用在线网站 (<https://www.omicshare.com/tools/Home/Index/index>)。

## 3 结果与分析

### 3.1 党参 WRKY 基因家族成员鉴定和蛋白理化性质分析

通过与拟南芥 *WRKY* 基因家族双向比对以及 Pfam 网站结构域筛选, 去除重复及冗余后共鉴定到 50 个党参 *CpWRKY* 基因, 按照染色体位置将其命名为 *CpWRKY1*~*CpWRKY50*。使用 TBtools (基于 ExPASy ProtParam 算法) 对鉴定到的 *CpWRKY* 蛋白的基本理化性质进行分析 (表 2)。发现 *CpWRKY* 蛋白质氨基酸大小为 103~986, 蛋白质相对分子质量为 12 435.14~107 946.28, 等电点介于 4.87~9.99。亚细胞定位预测显示, 有 48 个 *CpWRKY* 基因家族成员位于细胞核中, 1 个位于叶绿体中, 1 个位于细胞质中。

### 3.2 党参 WRKY 基因的染色体定位

根据党参的基因组数据和基因组注释文件获得 50 个基因序列在染色体上的位置, 使用 TBtools 进行染色体定位分析。结果显示 (图 1), 49 个基因分布在 8 条染色体, *CpWRKY50* 是唯一未组装在染色体上的基因。其中 3 号染色体上分布的基因最多, 有 15 个, 7 号染色体上基因最少只有 3 个, 其余染色体多分布为 4~7 个, 多数 *CpWRKY* 基因分布在染色体的两端, 且距离较近。

表2 CpWRKY 基因家族成员基本信息

Table 2 Basic information of *CpWRKY* gene family members

基因号	转录本登录号	重命名	氨基酸数目	相对分子质量	等电点	亚细胞预测定位
Cp01G000603	Cp01G000603.t1	CpWRKY1	200	22 678.83	9.01	叶绿体
Cp01G001360	Cp01G001360.t1	CpWRKY2	269	30 877.22	8.96	细胞核
Cp01G002412	Cp01G002412.t1	CpWRKY3	338	37 275.23	6.46	细胞核
Cp01G003461	Cp01G003461.t1	CpWRKY4	185	21 391.08	9.38	细胞核
Cp01G003605	Cp01G003605.t1	CpWRKY5	294	32 284.68	6.40	细胞核
Cp01G003648	Cp01G003648.t1	CpWRKY6	550	60 117.42	7.72	细胞核
Cp01G003768	Cp01G003768.t1	CpWRKY7	557	61 175.93	8.63	细胞核
Cp02G000652	Cp02G000652.t1	CpWRKY8	346	38 086.26	8.47	细胞核
Cp02G001410	Cp02G001410.t1	CpWRKY9	363	40 044.05	9.70	细胞核
Cp02G002025	Cp02G002025.t1	CpWRKY10	577	62 433.04	8.42	细胞核
Cp02G002360	Cp02G002360.t1	CpWRKY11	165	18 887.15	8.46	细胞核
Cp02G003396	Cp02G003396.t1	CpWRKY12	194	22 158.43	6.23	细胞核
Cp02G003416	Cp02G003416.t1	CpWRKY13	103	12 435.14	9.62	细胞核
Cp03G000183	Cp03G000183.t1	CpWRKY14	361	40 950.25	5.40	细胞核
Cp03G000255	Cp03G000255.t1	CpWRKY15	208	23 328.34	9.21	过氧化物酶体
Cp03G000257	Cp03G000257.t1	CpWRKY16	334	37 305.55	5.11	细胞核
Cp03G000462	Cp03G000462.t1	CpWRKY17	318	34 608.70	6.99	细胞核
Cp03G000909	Cp03G000909.t1	CpWRKY18	322	34 773.64	5.45	细胞核
Cp03G000910	Cp03G000910.t1	CpWRKY19	326	36 938.27	5.38	细胞核
Cp03G001396	Cp03G001396.t1	CpWRKY20	528	57 836.96	7.22	细胞核
Cp03G001498	Cp03G001498.t1	CpWRKY21	518	56 817.24	8.57	细胞核
Cp03G001920	Cp03G001920.t1	CpWRKY22	322	35 216.01	9.59	细胞核
Cp03G002601	Cp03G002601.t1	CpWRKY23	580	62 798.68	7.79	细胞核
Cp03G003388	Cp03G003388.t1	CpWRKY24	510	55 757.61	5.56	细胞核
Cp03G003524	Cp03G003524.t1	CpWRKY25	316	35 369.33	7.31	细胞核
Cp03G003696	Cp03G003696.t1	CpWRKY26	293	32 491.62	5.51	细胞核
Cp03G004033	Cp03G004033.t1	CpWRKY27	346	38 326.33	6.06	细胞核
Cp03G004127	Cp03G004127.t1	CpWRKY28	405	45 900.87	6.14	细胞核
Cp04G000115	Cp04G000115.t1	CpWRKY29	728	79 133.40	6.23	细胞核
Cp04G000306	Cp04G000306.t1	CpWRKY30	604	65 742.72	6.62	细胞核
Cp04G000384	Cp04G000384.t1	CpWRKY31	986	107 946.28	6.25	细胞核
Cp04G001015	Cp04G001015.t1	CpWRKY32	516	56 995.01	6.61	细胞核
Cp04G001131	Cp04G001131.t1	CpWRKY33	615	66 652.31	6.24	细胞核
Cp05G000065	Cp05G000065.t1	CpWRKY34	313	35 389.43	5.90	细胞核
Cp05G000134	Cp05G000134.t1	CpWRKY35	514	57 242.43	6.88	细胞核
Cp05G000428	Cp05G000428.t1	CpWRKY36	288	32 444.18	4.91	细胞核
Cp05G000600	Cp05G000600.t1	CpWRKY37	439	48 893.61	8.87	细胞核
Cp05G000892	Cp05G000892.t1	CpWRKY38	511	56 321.18	5.77	细胞核
Cp06G000093	Cp06G000093.t1	CpWRKY39	346	38 127.59	5.99	细胞核
Cp06G000118	Cp06G000118.t1	CpWRKY40	267	30 436.55	4.87	细胞核
Cp06G000545	Cp06G000545.t1	CpWRKY41	345	38 614.66	9.55	细胞核
Cp06G001050	Cp06G001050.t1	CpWRKY42	590	64 912.28	8.34	细胞核
Cp07G001691	Cp07G001691.t1	CpWRKY43	168	19 058.87	5.45	细胞质
Cp07G001894	Cp07G001894.t1	CpWRKY44	269	29 380.12	9.99	细胞核
Cp07G002138	Cp07G002138.t1	CpWRKY45	512	55 665.91	5.84	细胞核
Cp08G000841	Cp08G000841.t1	CpWRKY46	290	34 046.17	9.67	细胞核
Cp08G001298	Cp08G001298.t1	CpWRKY47	342	37 191.98	6.00	细胞核
Cp08G001345	Cp08G001345.t1	CpWRKY48	336	37 972.54	5.38	细胞核
Cp08G002579	Cp08G002579.t1	CpWRKY49	734	79 569.73	5.58	细胞核
Cp260G000001	Cp260G000001.t1	CpWRKY50	200	22 797.92	8.88	细胞核

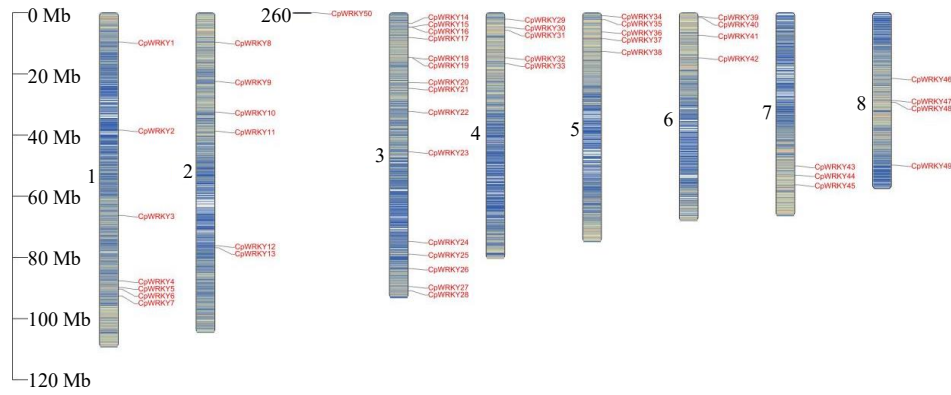


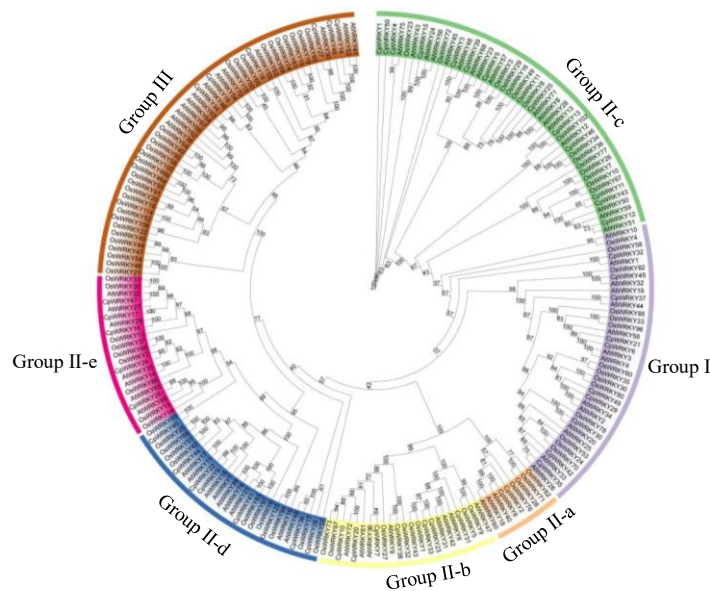
图 1 *CpWRKY* 基因染色体分布情况

Fig. 1 Chromosomal distribution of *CpWRKY*

### 3.3 党参 *WRKY* 基因家族成员系统进化分析

将鉴定得到的 50 个党参 *WRKY* 基因与拟南芥和水稻的 *WRKY* 蛋白序列共同构建系统发育树，以拟南芥 *WRKY* 基因家族的分类方法为参考将党参 *WRKY* 基因家族可分为 3 个组，其中 group II 又分为 5 个亚组，共 7 个组。其中 group I 中有 10 个成员，包含 *CpWRKY32*、*CpWRKY45*、*CpWRKY37*、*CpWRKY21*、*CpWRKY6*、*CpWRKY49*、*CpWRKY29*、*CpWRKY30*、*CpWRKY42*、*CpWRKY35*；group II 中有 34 个成员。group II 又分为 group II-a 包含 *CpWRKY2* 和 *CpWRKY8*，group II-b 有 7 个成员，为 *CpWRKY31*、*CpWRKY23*、*CpWRKY33*、

*CpWRKY38*、*CpWRKY7*、*CpWRKY20*、*CpWRKY10*；group II-c 有 13 个成员是最大的亚组，为 *CpWRKY1*、*CpWRKY50*、*CpWRKY4*、*CpWRKY15*、*CpWRKY3*、*CpWRKY39*、*CpWRKY5*、*CpWRKY25*、*CpWRKY13*、*CpWRKY46*、*CpWRKY11*、*CpWRKY43*、*CpWRKY12*；group II-d 有 7 个成员，为 *CpWRKY28*、*CpWRKY36*、*CpWRKY41*、*CpWRKY9*、*CpWRKY22*、*CpWRKY44*、*CpWRKY40*；group II-e 有 5 个成员，为 *CpWRKY26*、*CpWRKY24*、*CpWRKY16*、*CpWRKY17*、*CpWRKY47*；group III 中有 6 个成员，为 *CpWRKY34*、*CpWRKY19*、*CpWRKY18*、*CpWRKY27*、*CpWRKY48*、*CpWRKY14* (图 2)。



Cp-党参；At-拟南芥；Os-水稻。

Cp-*C. pilosula*; At-*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.; Os-*Oryza sativa* L..

图 2 党参 *WRKY* 基因的系统发育分析

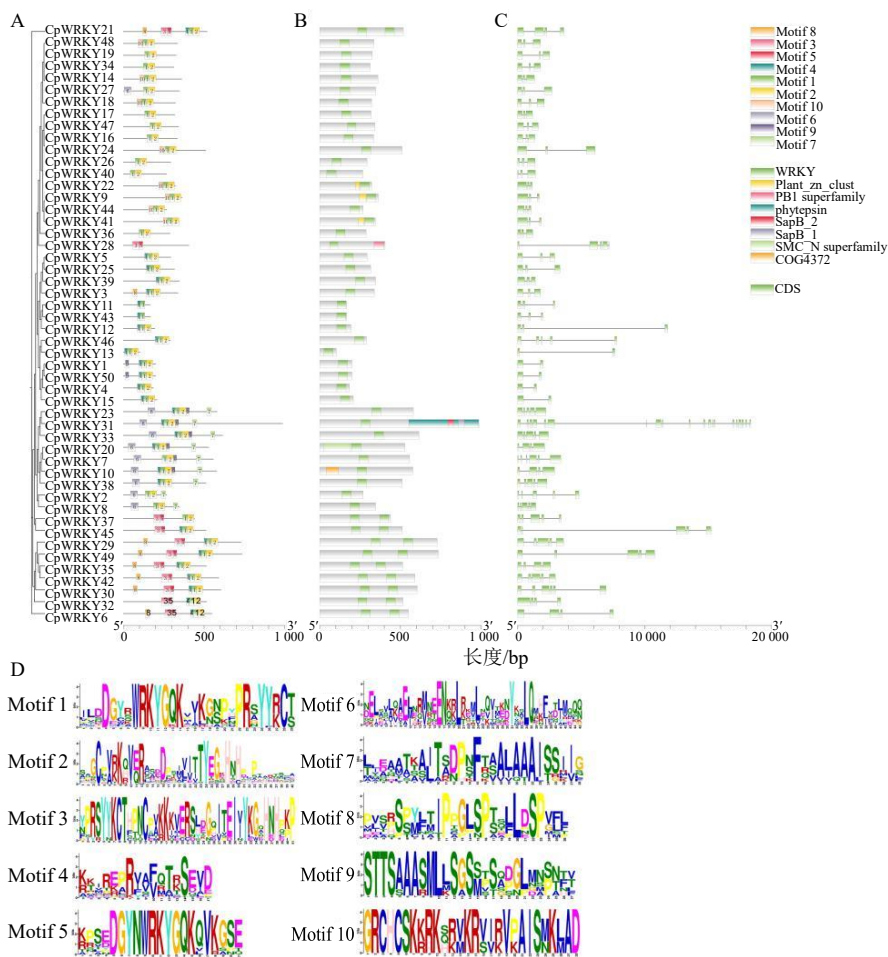
Fig. 2 Phylogenetic analysis of *WRKY* genes in *C. pilosula*

### 3.4 党参 WRKY 基因家族成员的结构域、Motif 的分布模式和基因结构分析

蛋白保守结构域通常与特定功能相关,本研究使用 MEME 网站对党参 WRKY 蛋白进行保守基序鉴定(图 3),除了 CpWRKY28 外,其余均含有 Motif1, 为最保守的 Motif。其次是 Motif2, 在 CpWRKY11、CpWRKY28、CpWRKY43 以外的成员中都有存在。部分 Motif 特殊存在于一些亚家族中,如 group I 亚家族中都存在 Motif3、Motif5, 而其他亚家族中并不是都存在。Motif7 只存在于 group II-a 和 group II-b 亚家族中(图 3-A)。10 个 Motif 的基序序列如图 3-D 所示。对 CpWRKY 的蛋白保守结构域及基因结构进行分析,结果显示,所有的 CpWRKY 蛋白均包含 WRKY 保守结构域(图 3-B)。

为了进一步研究 50 条转录因子的特性,本研

究对 50 条 *CpWRKY* 基因的外显子-内含子进行了分析。结果发现,在这 50 个基因中,内含子数目为 1~19, 外显子数量为 2~20, 其中, group II-b 亚家族转录因子的外显子数量相差较大, 范围集中在 4~20, 表明该亚家族在长期进化过程中可能发生了剧烈的基因结构重排, 推测其可能为党参应对复杂生物与非生物胁迫、调控特殊生长发育进程及次生代谢途径提供了多样化的功能基础; 其他亚家族转录因子的外显子数量主要集中在 1~5 (图 3-C), 基因结构相对保守, 反映出这类成员在进化中保留了稳定的核心编码区域, 其功能大概率偏向于维持基础的转录调控通路。整体而言, *CpWRKY* 基因家族的外显子-内含子结构分化, 既为基因功能的创新提供了突变素材, 又通过保守结构保留了家族核心功能, 是该家族适应党参独特生存与代谢需求的重要进化策略。



A-保守基序; B-保守结构域; C-基因结构; D-保守基序序列。

A-conserved Motif; B-conserved domain; C-gene structure; D-conserved Motif sequence.

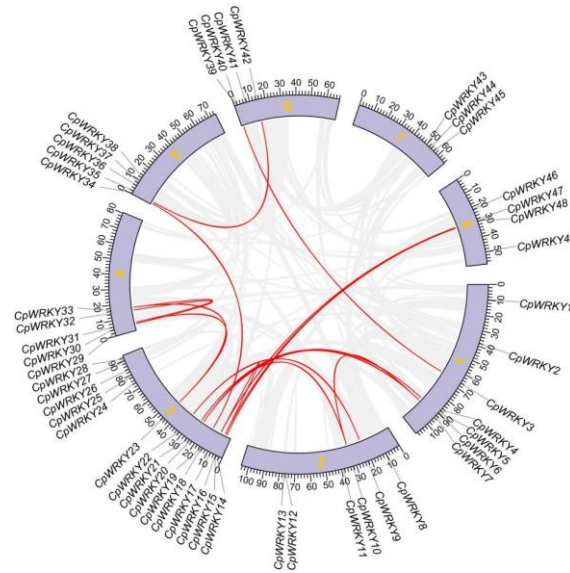
图 3 党参 WRKY 基因家族功能结构域

Fig. 3 Functional domain of *C. pilosula* WRKY gene family

### 3.5 党参 *WRKY* 基因共线性分析

为了鉴定党参 *WRKY* 中基因复制事件, 使用 TBtools 软件进行 *CpWRKY* 共线性分析 (图 4), 在 *CpWRKY* 中共鉴定到 16 对共线性基因, 共 23 个基因, 分别为 *CpWRKY7/CpWRKY10*、*CpWRKY6/CpWRKY21*、*CpWRKY7/CpWRKY20*、*CpWRKY3/CpWRKY39*、*CpWRKY9/CpWRKY22*、*CpWRKY10/CpWRKY20*、*CpWRKY16/CpWRKY17*、*CpWRKY23/CpWRKY31*、*CpWRKY23/CpWRKY33*、*CpWRKY19/CpWRKY34*、*CpWRKY14/CpWRKY48*、*CpWRKY16/CpWRKY47*、*CpWRKY17/CpWRKY47*、*CpWRKY30/CpWRKY32*、*CpWRKY31/CpWRKY33*、*CpWRKY35/CpWRKY42*。其中, 有 3 对共线性基因位于

于 group I 亚家族中, 11 对共线性基因位于 group III 亚家族, 2 对共线性基因位于 group III 亚家族。这 23 个基因间存在共线性关系, 并且全部都检测到了全基因组复制和片段性复制事件。为了深入探究 *CpWRKY* 基因的结构和功能之间的关系, 并阐明不同物种之间的进化, 本研究对水稻、拟南芥、党参和桔梗进行共线性分析 (图 5), 蓝色线代表 *CpWRKY* 与其他物种中基因的共线性。其中, 党参 *CpWRKY* 与拟南芥的共线性基因对有 51 对, 33 个基因; 与水稻的共线性基因对有 23 对, 15 个基因; 与桔梗的共线性基因对有 61 对, 43 个基因。以上结果说明党参中有 48 个基因是被子植物共有的, 有 33 个基因是双子叶植物共有的; 有 43 个基因是桔梗科植物共有的。

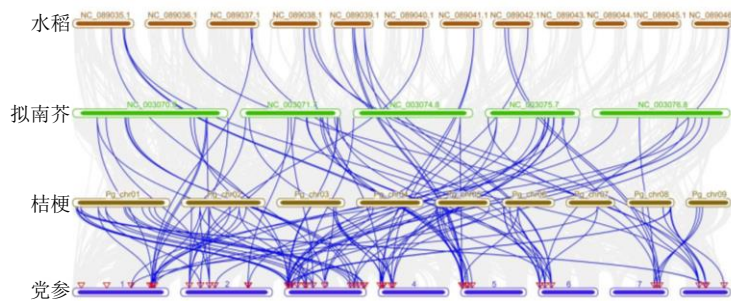


红色线表示 *CpWRKY* 中的共线性基因对, 灰色线表示其他同源基因对。

The red lines indicate collinear gene pairs in *CpWRKY*, and the gray lines indicate other homologous gene pairs.

图 4 *CpWRKY* 基因家族的种内共线性分析

Fig. 4 Intraspecific collinearity analysis of *CpWRKY* gene family



蓝色线表示 *CpWRKY* 同源基因对, 灰色线表示其他同源基因对。

The blue line indicates the *CpWRKY* homologous gene pair, and the gray line indicates other homologous gene pairs.

图 5 拟南芥、水稻、桔梗和党参的种间共线性分析

Fig. 5 Intergenic synteny analysis of *A. thaliana*, *O. sativa*, *Platycodon grandifloras* and *C. pilosula*

### 3.6 党参 WRKY 基因启动子顺式作用元件预测

为了进一步探究转录因子响应生物和非生物胁迫的机制，本研究使用 PlantCARE 对 50 个 *CpWRKY* 基因的起始密码子前 2 000 bp 序列进行了顺式作用元件预测。50 个 *CpWRKY* 中共有 56 种顺势元件，将这些顺式元件按照功能分为 4 类：生长发育相关、环境胁迫相关、激素响应相关、光响应相关(图 6)。生长发育相关的包括：AACA\_Motif、AT-rich element、CAT-box、GCN4\_Motif、HD-Zip 1

等，环境胁迫相关的有：ARE、AT-rich sequence、CCAAT-box、circadian、GC-Motif 等，激素响应相关的有 ABRE、AuxRR-core、CGTCA-Motif、GARE-Motif、P-box 等，光响应相关的有：3-AF1 binding site、AAAC-Motif、ACA-Motif、ACE、AE-box 等。其中数量最多的是与光响应相关的元件，其次是激素响应和环境响应相关的，推测这些基因可能在响应这些胁迫方面发挥重要作用，本结果可以为未来预测基因功能奠定理论基础。

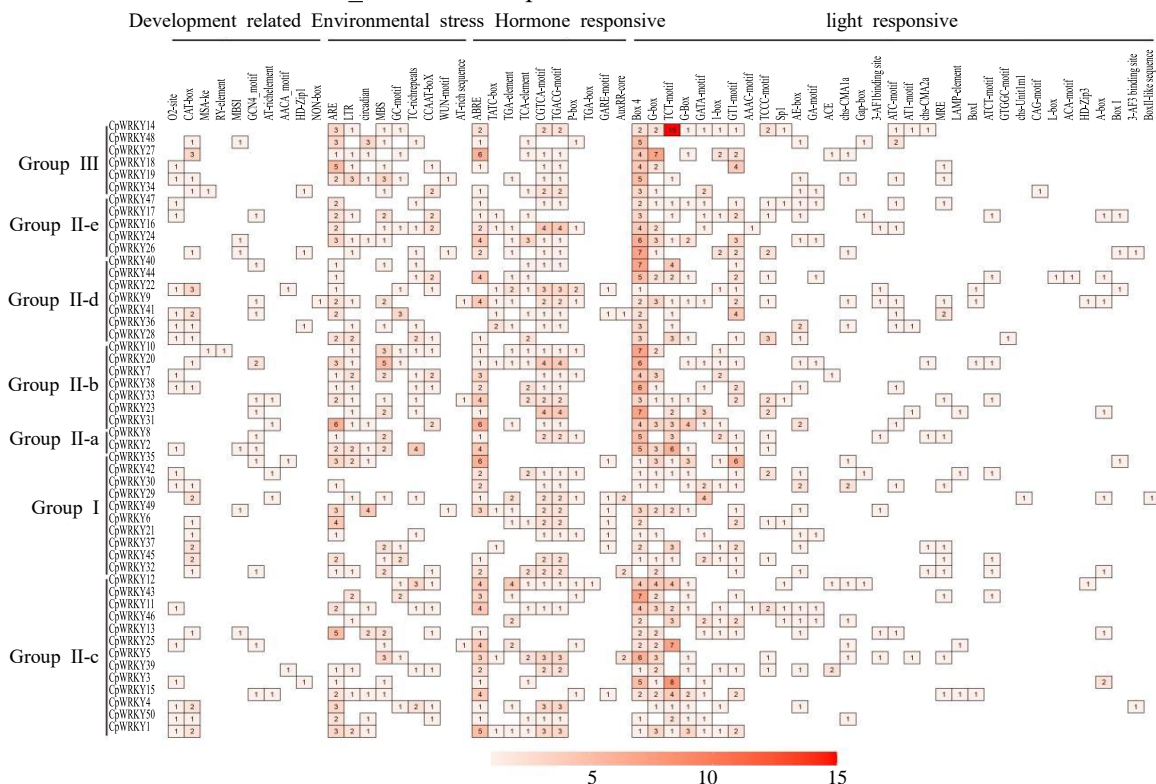


图 6 *CpWRKY* 基因家族启动子区域顺式作用元件数量统计分析

Fig. 6 Statistical analysis of number of *cis*-acting elements in promoter region of *CpWRKY* gene family

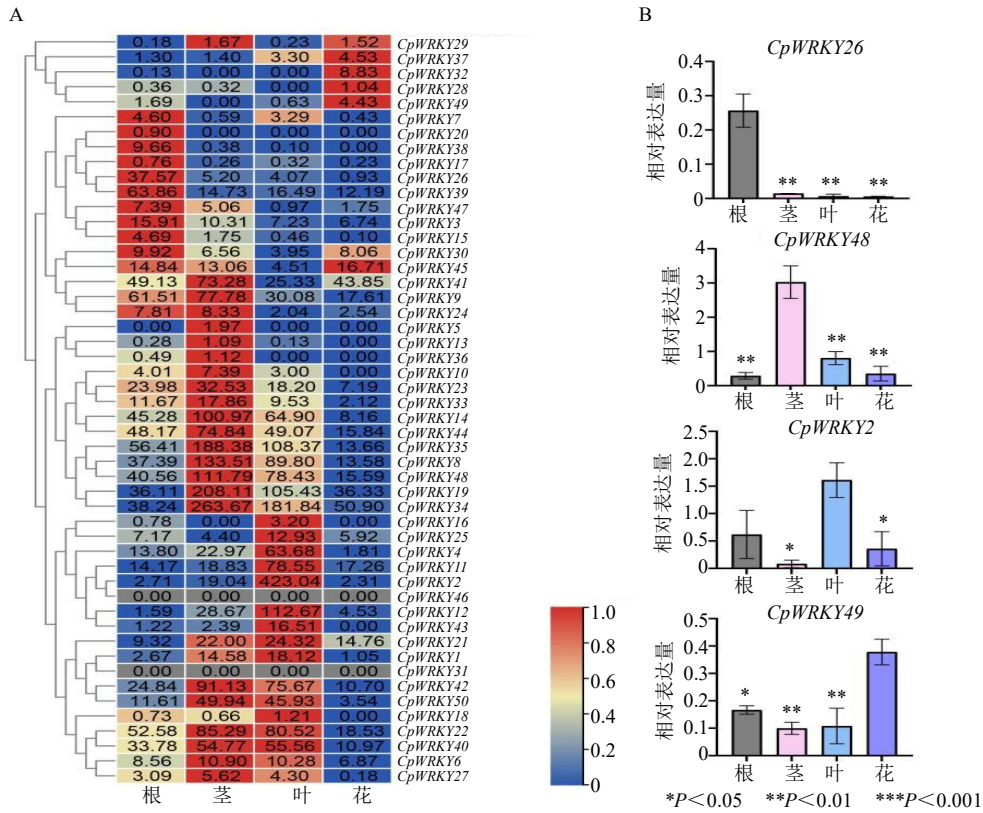
### 3.7 党参 WRKY 基因在根、茎、叶和花中的表达模式分析

为了探究 *CpWRKY* 基因在党参不同组织部位的表达模式，利用党参根、茎、叶、花 4 个部位的转录组数据进行分析(图 7-A)，结果表明，*CpWRKY* 基因在 4 个组织中的表达模式不同，大部分基因在茎中表达量较高，其次是根和叶，但在花中表达量最低。其中 *CpWRKY34*、*CpWRKY19*、*CpWRKY41* 在 4 个组织中均有较高的表达，而 *CpWRKY31*、*CpWRKY46* 在 4 个组织中都不表达。选取在 4 个组织中特异高表达的基因，根中高表达的 *CpWRKY26*，茎中高表达的 *CpWRKY48*，叶中高表达的 *CpWRKY2* 和花中高表达的 *CpWRKY49* 基因

进行 qRT-PCR 验证，结果显示(图 7-B)，这 4 个基因在不同组织间的表达趋势和转录组结果一致。

### 3.8 党参 WRKY 基因在盐胁迫处理下的表达模式分析

为探讨 *CpWRKY* 基因在盐胁迫条件下的响应特征，对本课题组前期获得的党参盐胁迫转录组数据进行了分析(图 8)。转录组共筛选获得 7 699 个差异表达基因(图 8-A)，其中 CK 与 S2 组之间差异表达基因数量最多，共 4 850 个；CK 与 S2 组之间差异表达基因有 2 849 个；2 组比较中共有 1 798 个共同差异表达基因，表明在不同浓度盐处理下，党参存在部分稳定响应的核心调控基因。在所有差异表达基因中，共鉴定到 31 个 *CpWRKY* 成员发生



A-*CpWRKY* 基因在根、茎、叶、花中的表达量（数字表示实际表达量，离散色阶表示行内标准化）；B-4 个 *CpWRKY* 基因在党参根、茎、叶、花的相对表达量分析。

A-Analysis of *CpWRKY* gene expression levels in Roots, Stems, Leaves, and Flowers(The numbers in the figure A indicate the actual expression levels, and the discrete color scale represents row-wise normalization); B-Analysis of the relative expression levels of 4 *CpWRKY* genes in the roots, stems, leaves, and flowers of *Codonopsis Pilosula*.

图 7 *CpWRKY* 基因表达模式分析

Fig. 7 Gene expression pattern analysis of *CpWRKY*

显著表达变化(图 8-B)。其中, CK 与 S1 组中共有 14 个差异表达 *CpWRKY* 基因, CK 与 S2 组中共有 17 个差异表达 *CpWRKY* 基因, 两组比较中共有 8 个 *CpWRKY* 基因表现为共同差异表达, 提示其可能在不同盐浓度条件下均参与调控响应过程。

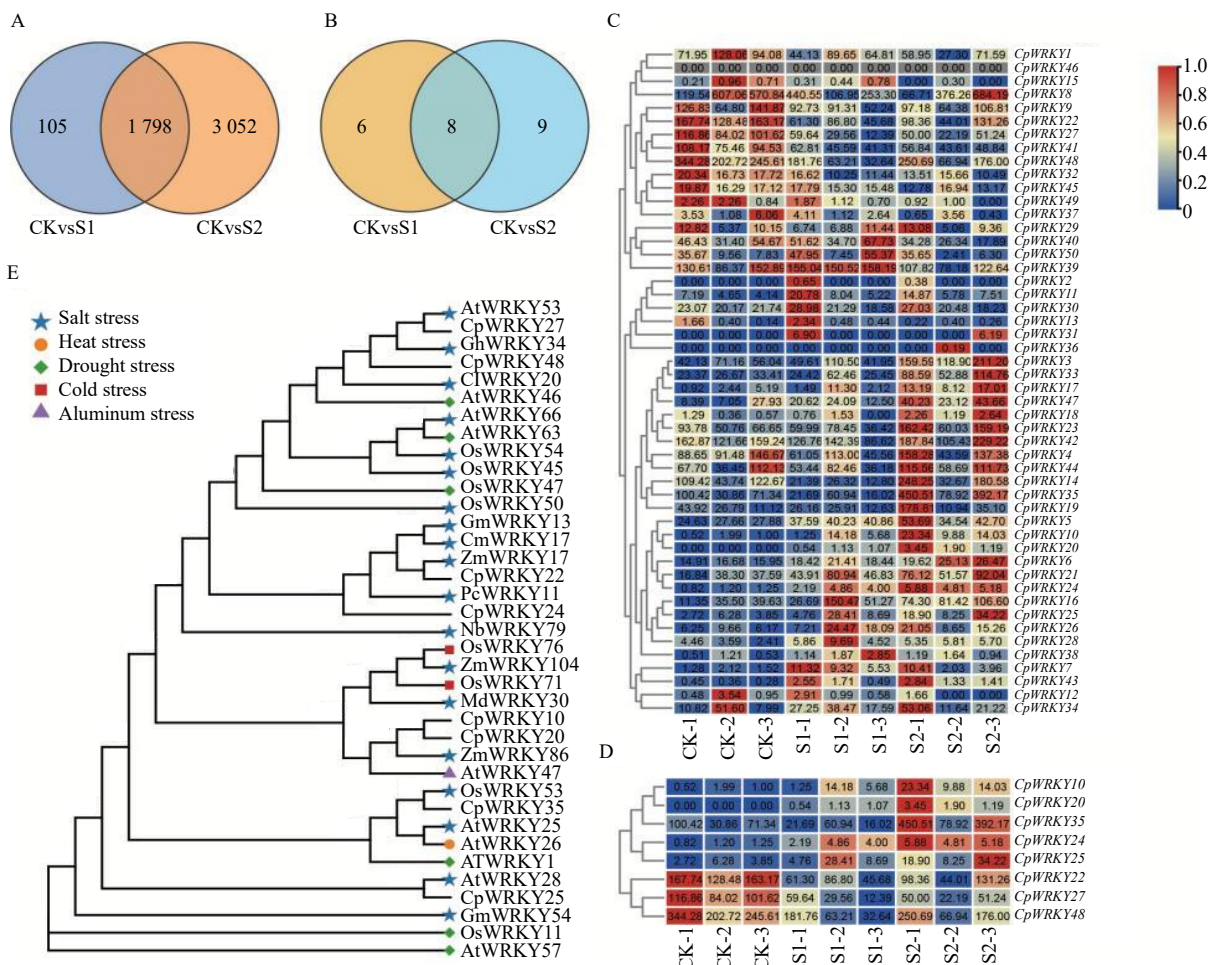
对全部 50 个 *CpWRKY* 基因在 CK、S1 和 S2 3 个处理组中的表达量进行聚类分析(图 8-C), 结果显示部分成员在盐胁迫处理后表达明显上调或下调, 呈现出不同的表达模式。整体来看, 高盐处理(S2)条件下 *CpWRKY* 基因的表达变化幅度更为显著, 说明较高浓度 NaCl 处理对 WRKY 家族基因的诱导或抑制作用更为明显。上述 8 个共同差异表达的 *CpWRKY* 基因在不同盐浓度处理下均表现出表达变化趋势, 提示其可能在党参盐胁迫响应过程中发挥稳定调控作用(图 8-D)。进一步选取这 8 个 *CpWRKY* 基因, 与其他植物中已报道参与非生物胁迫(盐、干旱、高温等)响应的 WRKY 蛋白序列构

建系统发育树(图 8-E)。结果表明, 这 8 个 *CpWRKY* 蛋白分别与已知的抗盐相关 WRKY 成员聚类在同一或相邻分支, 系统发育关系较近, 提示其可能在党参盐胁迫响应调控中发挥重要作用。

#### 4 讨论

党参长期以来被用作入药和食用的原料, 因其丰富的药理活性且几乎无毒副作用导致其需求量日益增大<sup>[34]</sup>, 通过研究提高党参药效成分的转录因子是增加其产量的有效手段之一。而 WRKY 转录因子是植物中最重要的转录因子家族之一, 在植物生长发育、次生代谢调控及胁迫响应中发挥着核心作用<sup>[35-36]</sup>。随着高通量测序技术的快速发展, WRKY 基因家族已在多种植物中被鉴定, 但在药用植物党参中的研究尚属空白。

本研究从党参基因组中共鉴定出 50 个 WRKY 基因, 其数量与拟南芥(72 个)<sup>[12]</sup>、番茄(81 个)<sup>[15]</sup>、高粱(94 个)<sup>[37]</sup>等模式植物相比略少, 但与多种药



A-党参在盐胁迫处理后的差异表达基因数量分析；B-党参盐胁迫处理后差异表达基因中 *CpWRKY* 基因的数量分析；C-党参盐胁迫处理后 *CpWRKY* 基因的表达量分析；D-党参盐胁迫处理后 8 个 *CpWRKY* 基因的表达量分析；E-8 个 *CpWRKY* 基因与已知参与非生物胁迫基因的系统发育分析。

A-Analysis of the number of differentially expressed genes in *Codonopsis pilosula* under salt stress treatment; B-Analysis of the number of *CpWRKY* genes in differentially expressed genes after salt stress treatment in *Codonopsis pilosula*; C-Analysis of *CpWRKY* gene expression in *Codonopsis pilosula* under salt stress; D-Expression analysis of 8 *CpWRKY* genes in *Codonopsis pilosula* under salt stress; E-Phylogenetic analysis of eight *CpWRKY* genes with known genes.

图 8 响应盐胁迫的 *CpWRKY* 基因分析

Fig. 8 Analysis of *CpWRKY* Genes in response to salt stress

用植物的数量级相当，如丹参（61 个）<sup>[38]</sup>、鼠尾草（46 个）<sup>[39]</sup>、三七（30 个）<sup>[40]</sup>等，表明党参 *WRKY* 基因家族在数量上维持了中等规模、适应型的扩增策略。不同物种中 *WRKY* 基因数量的差异可能与基因组大小、倍性水平及进化过程中的基因复制事件有关。此外，系统发育分析结果将 *CpWRKY* 分为 3 大类，其中 II 类进一步细分为 5 个亚群（II-a~II-e），这与拟南芥 *WRKY* 基因的分类模式一致<sup>[12]</sup>。*CpWRKY* 中 II 类基因数量最多，占总数的 68%，在每条染色体上都有分布，其中在 1、2、3 号染色体上分布的最多，表明该类 *WRKY* 在党参中发生了

显著的家庭扩增。类似的扩增现象也在人参<sup>[41]</sup>、菊花<sup>[42]</sup>及鼠尾草<sup>[39]</sup>中观察到，推测这种现象可能与基因复制相关，特别是全基因组复制或片段复制。在 50 个 *CpWRKY* 基因中，有 23 个存在共线性关系的基因，全部都检测到了全基因组复制和片段性复制事件。本研究中还构建了党参中 *CpWRKY* 和拟南芥、水稻、桔梗的共线性图。党参 *WRKY* 与拟南芥的共线性基因对有 33 对，与水稻的共线性基因对有 15 对，与桔梗的共线性基因对有 43 对。党参与单子叶植物的共线性基因对少于党参与双子叶植物的共线性基因对，这可能意味着这些基因对是随着双子叶植物

和单子叶植物的分化而形成的。

通过对不同组织中基因表达模式的探索可以为基因功能的挖掘提供线索。本研究分析了 50 个 *CpWRKY* 基因在党参根、茎、叶和花中的表达模式。研究发现, *CpWRKY* 基因与党参生长发育密切相关。大部分 *CpWRKY* 在茎中有较高的表达, 其次是根和叶中。据报道, 拟南芥中 *AtWRKY71* 是控制枝条分支的关键因子<sup>[43]</sup>, 水稻中 *OsWRKY11* 起到了株高抑制因子的作用<sup>[44]</sup>, 而这 2 个因子聚在同一个分支中, 推测与其共同聚类的 *CpWRKY25* 可能在 *WRKY* 调节植物株高和分支中有影响。许多 *WRKY* 基因在一种或多种组织中表达, 在植物的生长发育中起着重要的作用。同时 *WRKY* 基因也广泛参与到了植物对逆境的耐受性方面, 通过启动子顺势作用元件分析发现, 几乎所有的 *CpWRKY* 基因都含有与非生物胁迫相关的顺式元件(如光、热、盐、干旱和激素), 这表明这些 *CpWRKY* 基因参与多种应激反应。在 50 个 *CpWRKY* 基因中, 有 41 个成员含有 ABRE 脱落酸响应元件, 37 个含有 CGTCA 茉莉酸甲酯响应元件, 23 个含有 TCA 水杨酸响应元件, 表明 *CpWRKY* 基因也参与了多种植物激素调控途径。

盐胁迫是限制植物生长和产量的重要非生物胁迫因素之一<sup>[45]</sup>, 高浓度盐离子不仅会导致细胞内  $\text{Na}^+$  过量积累和  $\text{K}^+$  流失, 破坏离子稳态, 还会诱导活性氧(reactive oxygen species, ROS)大量产生, 造成膜脂过氧化和蛋白质氧化损伤, 从而影响植物正常的生理代谢过程<sup>[46-47]</sup>。植物为维持生存需通过调控离子转运、渗透调节及抗氧化系统等多层级机制来缓解盐毒害<sup>[48]</sup>。近年来研究表明, *WRKY* 转录因子在盐胁迫信号网络中发挥关键调控作用, 既可响应 ABA 依赖型信号通路, 也可参与 ROS 稳态维持, 从而调控下游抗逆基因表达<sup>[49]</sup>。结合本研究党参盐胁迫分析结果, *CpWRKY27* 和 *CpWRKY48* 同属于 Group III 亚家族, 且在进化树中与拟南芥 *AtWRKY53* 聚类于同一分支(图 8-E), 提示其在结构与功能上可能具有一定保守性。已有研究表明, *AtWRKY53* 在盐胁迫条件下通过调控 *AtABI3* 的转录表达参与盐响应调控, 其表达上调会增强 *AtABI3* 表达, 而 *abi3* 突变体表现出增强的盐耐受性, 表明 *AtWRKY53* 在盐胁迫中发挥负调控作用<sup>[50]</sup>。此外, 本研究发现 *CpWRKY27* 和 *CpWRKY48* 启动子区域均含有 ABRE 顺式作用元件, 暗示其可能参与 ABA

依赖型信号调控。值得注意的是, 两个基因在盐胁迫条件下表达水平随盐浓度升高而下降(图 8-D), 表明其可能在正常生长条件下维持某些生长或代谢相关基因表达, 而在盐胁迫发生时表达受抑, 从而解除对抗逆通路的抑制, 促进植物适应盐环境。因此, 推测 *CpWRKY27* 和 *CpWRKY48* 可能作为盐胁迫响应中的负调控因子, 通过参与 ABA 信号与 ROS 稳态调节网络, 在党参抗盐调控过程中发挥重要作用。这一推测为后续功能验证和抗盐分子育种研究提供了重要候选基因。

综上所述, 本研究从党参基因组数据中获得了 50 条 *CpWRKY* 基因家族转录因子, 揭示了党参 *WRKY* 基因家族的系统特征与表达规律, *CpWRKY* 基因家族不仅参与党参生长发育调控, 也可能在盐胁迫响应中发挥分化调控作用, 尤其是 Group III 成员可能构成抗盐调控网络中的关键节点, 为深入探究 *CpWRKY* 基因功能奠定理论基础。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2025: 293.
- [2] 雷文婷, 王磊, 朱瑞芳, 等. 党参红茶免疫调节作用的实验研究与临床观察 [J]. 护理研究, 2022, 36(13): 2386-2389.
- [3] 张欢, 李超, 汲晨锋. 药食同源党参化学成分、药理作用及应用研究进展 [J]. 食品科学, 2024, 45(23): 338-348.
- [4] Luan F, Ji Y F, Peng L X, *et al.* Extraction, purification, structural characteristics and biological properties of the polysaccharides from *Codonopsis pilosula*: A review [J]. *Carbohydr Polym*, 2021, 261: 117863.
- [5] 张向东, 高建平, 曹铃亚, 等. 中药党参资源及生产现状 [J]. 中华中医药学刊, 2013, 31(3): 496-498.
- [6] 王红燕, 陈垣, 郭凤霞, 等. 党参属种质资源多样性及可药用种质创新研究进展 [J]. 中草药, 2024, 55(3): 978-988.
- [7] Eulgem T, Rushton P J, Robatzek S, *et al.* The *WRKY* superfamily of plant transcription factors [J]. *Trends Plant Sci*, 2000, 5(5): 199-206.
- [8] Ülker B, Somssich I E. *WRKY* transcription factors: From DNA binding towards biological function [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2004, 7(5): 491-498.
- [9] Bakshi M, Oelmüller R. *WRKY* transcription factors: Jack of many trades in plants [J]. *Plant Signal Behav*, 2014, 9(2): e27700.
- [10] Zhang Y J, Wang L J. The *WRKY* transcription factor

- superfamily: Its origin in eukaryotes and expansion in plants [J]. *BMC Evol Biol*, 2005, 5: 1.
- [11] Jiang J J, Ma S H, Ye N H, *et al.* WRKY transcription factors in plant responses to stresses [J]. *J Integr Plant Biol*, 2017, 59(2): 86-101.
- [12] Dong J X, Chen C H, Chen Z X. Expression profiles of the *Arabidopsis* WRKY gene superfamily during plant defense response [J]. *Plant Mol Biol*, 2003, 51(1): 21-37.
- [13] Wu K L, Guo Z J, Wang H H, *et al.* The WRKY family of transcription factors in rice and *Arabidopsis* and their origins [J]. *DNA Res*, 2005, 12(1): 9-26.
- [14] Zhao Z H, Wang R N, Su W H, *et al.* A comprehensive analysis of the WRKY family in soybean and functional analysis of GmWRKY164-GmGSL7c in resistance to soybean mosaic virus [J]. *BMC Genom*, 2024, 25(1): 620.
- [15] Huang S X, Gao Y F, Liu J K, *et al.* Genome-wide analysis of WRKY transcription factors in *Solanum lycopersicum* [J]. *Mol Genet Genom*, 2012, 287(6): 495-513.
- [16] Ciolkowski I, Wanke D, Birkenbihl R P, *et al.* Studies on DNA-binding selectivity of WRKY transcription factors lend structural clues into WRKY-domain function [J]. *Plant Mol Biol*, 2008, 68(1): 81-92.
- [17] Brand L H, Fischer N M, Harter K, *et al.* Elucidating the evolutionary conserved DNA-binding specificities of WRKY transcription factors by molecular dynamics and *in vitro* binding assays [J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(21): 9764-9778.
- [18] Chen T T, Li Y P, Xie L H, *et al.* AaWRKY17, a positive regulator of artemisinin biosynthesis, is involved in resistance to *Pseudomonas syringae* in *Artemisia annua* [J]. *Hortic Res*, 2021, 810.1038: s41438-21-00652-6.
- [19] van Verk M C, Bol J F, Linthorst H J. WRKY transcription factors involved in activation of SA biosynthesis genes [J]. *BMC Plant Biol*, 2011, 11(1): 89.
- [20] Sun Y D, Yu D Q. Activated expression of AtWRKY53 negatively regulates drought tolerance by mediating stomatal movement [J]. *Plant Cell Rep*, 2015, 34(8): 1295-1306.
- [21] Song Y S, Zheng H X, Sui Y, *et al.* SbWRKY55 regulates sorghum response to saline environment by its dual role in abscisic acid signaling [J]. *Theor Appl Genet*, 2022, 135(8): 2609-2625.
- [22] 潘凌云, 马家冀, 李建民, 等. 植物盐胁迫应答转录因子的研究进展 [J]. *生物工程学报*, 2022, 38(1): 50-65.
- [23] Yang Y Q, Guo Y. Elucidating the molecular mechanisms mediating plant salt-stress responses [J]. *New Phytol*, 2018, 217(2): 523-539.
- [24] Munns R, Tester M. Mechanisms of salinity tolerance [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2008, 59: 651-681.
- [25] Ding Z J, Yan J Y, Li C X, *et al.* Transcription factor WRKY46 modulates the development of *Arabidopsis* lateral roots in osmotic/salt stress conditions via regulation of ABA signaling and auxin homeostasis [J]. *Plant J*, 2015, 84(1): 56-69.
- [26] Zhang Y Z, Li P, Niu Y Q, *et al.* Evolution of the WRKY66 gene family and its mutations generated by the CRISPR/Cas9 system increase the sensitivity to salt stress in *Arabidopsis* [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(4): 3071.
- [27] Tao Z, Kou Y J, Liu H B, *et al.* OsWRKY45 alleles play different roles in abscisic acid signalling and salt stress tolerance but similar roles in drought and cold tolerance in rice [J]. *J Exp Bot*, 2011, 62(14): 4863-4874.
- [28] Huang S Z, Hu L J, Zhang S H, *et al.* Rice OsWRKY50 mediates ABA-dependent seed germination and seedling growth, and ABA-independent salt stress tolerance [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(16): 8625.
- [29] Huang J J, Liu F H, Chao D, *et al.* The WRKY transcription factor OsWRKY54 is involved in salt tolerance in rice [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(19): 11999.
- [30] Yu J S, Cao X, Mi Y L, *et al.* Genome-wide analysis of WRKY gene family in high-CBD hemp (*Cannabis sativa* L.) and identification of the WRKY genes involved in abiotic stress responses and regulation cannabinoid accumulation [J]. *Ind Crops Prod*, 2024, 210: 118158.
- [31] Chen B Z, Yang Z J, Yang L, *et al.* Chromosome-scale genome assembly of *Codonopsis pilosula* and comparative genomic analyses shed light on its genome evolution [J]. *Front Plant Sci*, 2024, 15: 1469375.
- [32] Chen C J, Chen H, Zhang Y, *et al.* TBtools: An integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data [J]. *Mol Plant*, 2020, 13(8): 1194-1202.
- [33] Xie J M, Chen Y R, Cai G J, *et al.* Tree Visualization By One Table (tvBOT): A web application for visualizing, modifying and annotating phylogenetic trees [J]. *Nucleic Acids Res*, 2023, 51(W1): W587-W592.
- [34] Gao S M, Liu J S, Wang M, *et al.* Traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicology of *Codonopsis*: A review [J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 219: 50-70.
- [35] Rushton P J, Somssich I E, Ringler P, *et al.* WRKY transcription factors [J]. *Trends Plant Sci*, 2010, 15(5): 247-258.
- [36] Wani S H, Anand S, Singh B, *et al.* WRKY transcription factors and plant defense responses: Latest discoveries and future prospects [J]. *Plant Cell Rep*, 2021, 40(7): 1071-1085.

- [37] Baillo E H, Hanif M S, Guo Y H, *et al.* Genome-wide identification of WRKY transcription factor family members in sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) moench) [J]. *PLoS One*, 2020, 15(8): e0236651.
- [38] Li C L, Li D Q, Shao F J, *et al.* Molecular cloning and expression analysis of *WRKY* transcription factor genes in *Salvia miltiorrhiza* [J]. *BMC Genom*, 2015, 16(1): 200.
- [39] Zhang G L, Sun Y E, Ullah N, *et al.* Changes in secondary metabolites contents and stress responses in *Salvia miltiorrhiza* via ScWRKY35 overexpression: Insights from a wild relative *Salvia castanea* [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2024, 211: 108671.
- [40] Zheng L L, Qiu B L, Su L L, *et al.* *Panax notoginseng* WRKY transcription factor 9 is a positive regulator in responding to root rot pathogen *Fusarium solani* [J]. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 930644.
- [41] Di P, Wang P, Yan M, *et al.* Genome-wide characterization and analysis of WRKY transcription factors in *Panax ginseng* [J]. *BMC Genom*, 2021, 22(1): 834.
- [42] Song A P, Li P L, Jiang J F, *et al.* Phylogenetic and transcription analysis of *Chrysanthemum* WRKY transcription factors [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(8): 14442-14455.
- [43] Guo D S, Zhang J Z, Wang X L, *et al.* The WRKY transcription factor WRKY71/EXB1 controls shoot branching by transcriptionally regulating *RAX* genes in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2015, 27(11): 3112-3127.
- [44] Cai Y H, Chen X J, Xie K, *et al.* Dlf1, a WRKY transcription factor, is involved in the control of flowering time and plant height in rice [J]. *PLoS One*, 2014, 9(7): e102529.
- [45] Zhao S S, Zhang Q K, Liu M Y, *et al.* Regulation of plant responses to salt stress [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(9): 4609.
- [46] Zhou H P, Shi H F, Yang Y Q, *et al.* Insights into plant salt stress signaling and tolerance [J]. *J Genet Genom*, 2024, 51(1): 16-34.
- [47] Park H J, Kim W Y, Yun D J. A new insight of salt stress signaling in plant [J]. *Mol Cells*, 2016, 39(6): 447-459.
- [48] Liu C Y, Jiang X B, Yuan Z H. Plant responses and adaptations to salt stress: A review [J]. *Horticulturae*, 2024, 10(11): 1221.
- [49] Rai G K, Mishra S, Chouhan R, *et al.* Plant salinity stress, sensing, and its mitigation through WRKY [J]. *Front Plant Sci*, 2023, 14: 1238507.
- [50] Xu K, Liu S Y, Yu J F, *et al.* AtR8 ncRNA mediates salt tolerance by regulating AtWRKY53-AtABI<sub>3</sub> modules and reactive oxygen species homeostasis in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell Physiol*, 2026, 15: pcag003.

[责任编辑 时圣明]