

不同水分条件下杜鹃花转录因子的转录组分析

王华¹, 张石虎¹, 龚雪梅², 王瑞生¹, 邓新义^{1*}

(1. 安徽农业大学园艺学院, 合肥 230036; 2. 阜阳职业技术学院生化工程系, 安徽 阜阳 236031)

摘要: 为了解杜鹃花(*Rhododendron pulchurum*)转录因子在干旱胁迫下的表达模式, 利用高通量测序技术, 对不同水分条件下“白凤4号”叶的转录因子表达谱进行分析。结果表明, 在不同水分处理间有 34~161 个差异表达的转录因子, 杜鹃花响应不同水分的转录调控主要是通过 *ERF*、*bHLH* 和 *MYB* 基因的表达协同完成的; 干旱胁迫时, 特异调动了 *NAC* 的差异表达和 *WRKY*、*bZIP*、*PLATZ* 的上调表达, 干旱后复水时特异调动了 *GATA* 表达来调控。RT-qPCR 验证结果表明, 基因表达趋势与测序结果一致, 证明了测序结果的有效性。这为明晰杜鹃花抗旱的分子机理及分子育种奠定了理论基础。

关键词: 杜鹃花; 转录因子; 转录组; 干旱胁迫

doi: 10.11926/jtsb.3910

Transcriptome Analysis of Transcription Factors of *Rhododendron pulchurum* ‘Baifeng4’ under Different Water Conditions

WANG Hua¹, ZHANG Shi-hu¹, GONG Xue-mei², WANG Rui-sheng¹, DENG Xin-yi^{1*}

(1. College of Horticulture, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China; 2. Department of Biochemical Engineering, Fuyang Institute of Technology, Fuyang 236031, Anhui, China)

Abstract: In order to reveal the expression pattern of transcriptome factors (TFs) of *Rhododendron pulchurum* under drought stress, the expression profiles of transcription factors in ‘Baifeng 4’ under different water conditions were analysed by using the high-throughput sequencing technology. The results showed that there were 34–161 differential expression TFs among different water treatments. The transcriptional regulation in *Rhododendron* response to drought was synergistic effects of the expressions of *ERF*, *bHLH* and *MYB* genes. The special expression of *NAC* and up expression of *WRKY*, *bZIP*, *PLATZ* were found under drought stress, and the special expression of *GATA* in rehydration. The trend of gene expression was consistent with sequencing results by RT-qPCR, showing the validity of sequencing results. Therefore, these would be lay a theoretical foundation for understanding the molecular mechanism of drought resistance and molecular breeding of *Rhododendron*.

Key words: *Rhododendron*; Transcription factor; Transcriptome; Drought stress

随着全球气候变暖, 干旱已经成为植物面临的主要非生物胁迫之一。在漫长的进化过程中, 植物形成了一套复杂的抗旱机制来应对干旱, 包括形态适应、生理生化响应及基因表达调控等^[1]。杜鹃(*Rhododendron* sp.)是中国的十大名花之一, 素有“花中西施”的美誉, 但由于其对水分比较敏感, 再加

上城市土壤水分缺失, 在园林绿化中经常受到干旱胁迫的影响, 进而限制了在园林中的进一步推广, 因此, 对于杜鹃花干旱响应机理的研究已显得尤为迫切。目前, 对杜鹃花干旱胁迫的研究主要集中在种子萌发^[2]和植株生理生化水平的适应性调节^[3-5], 而相关分子水平的研究鲜有报道。

收稿日期: 2018-03-19

接受日期: 2018-05-18

基金项目: 安徽省高校自然科学基金项目(KJ2016A237, KJ2016A558)资助

This work was supported by the Projects for Natural Science Research of Higher Education Colleges in Anhui Province (Grant No. KJ2016A237, KJ2016A558).

作者简介: 王华, 女, 讲师。E-mail: wzhgbb@ahau.edu.cn

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: xydeng2001@ahau.edu.cn

植物体内的转录因子(transcription factor, TF)是通过与靶基因启动子区的特定 DNA 序列(顺式作用元件)结合,从而提高或抑制靶基因转录水平的调控基因^[6]。在植物基因组中,大约 7%的编码序列被注释为 TFs^[7],而且常常是以基因家族的形式出现。这些转录因子家族,如 MYB^[8]、bHLH^[9]、NAC^[10]、WRKY^[11]、bZIP^[12]和 ERF^[13]等对于构建植物应对外界生物或非生物胁迫刺激的转录调控网络至关重要。因此,基因工程中可以运用转录因子来提高植物的抗逆性^[14],而挖掘抗逆转录因子则成为了基因工程的基础工作之一。

本研究在杜鹃花转录组测序研究的基础上,深入挖掘杜鹃花应答不同水分条件的转录因子,为阐明杜鹃花抗旱的分子机理及培育抗旱新品种奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料和处理

以长势良好的 2 年生杜鹃花‘白凤 4 号’(*Rhododendron pulchurum* ‘Baifeng 4’)盆栽扦插苗为试验材料,在人工气候室内进行处理,以正常浇灌为对照(CK),土壤含水量为(70±5)%;停止浇水 2 d 为中等干旱(middle drought, MD),土壤含水量为(60±5)%;停止浇水 3 d 为严重干旱(severe drought, SD),土壤含水量为(45±5)%;然后恢复正常浇水 3 d 设为复水处理(rewatering, RW),土壤含水量为(70±5)%,每个处理 30 株。人工气候室的光/暗为 12 h/12 h,白

天温度 25℃,晚上温度 15℃,空气相对湿度为 65%。每个处理摘取从上往下第 2~4 片成熟功能叶进行 RNA 提取,用于转录组测序。

1.2 转录组测序

杜鹃花叶片的 RNA 提取和转录组序列测定及分析参考 WU 等^[1]的方法,获得 Clean reads 后通过 *De novo* 组装得到基因序列,然后,对差异表达的基因进行分析。本研究中,基因的表达量用 RPKM 值来统计,且界定 Log₂Ratio 绝对值 ≥ 1、FDR ≤ 0.01 的基因为差异表达基因。在此基础上,通过 BLAST 与 Nr 库进行比对,筛选出差异表达的转录因子。

1.3 差异表达转录因子 Real-time PCR 验证

转录组测序数据的有效性和准确性用实时荧光定量(RT-qPCR)法来验证。随机挑选 6 个差异表达的转录因子,用 Primer Premier 5.0 设计荧光定量 PCR 引物(表 1),以杜鹃叶片的 cDNA 为模板,以 *Actin* 基因为内参,并参考 WU 等^[1]的方法分析基因的相对表达量。RPKM 值用于统计基因的表达量,是表示 10⁶ 个 reads 中来自于某基因 1 kb 长度的 reads。每个样品 4 次重复。

2 结果和分析

2.1 差异表达基因和转录因子数据统计

以杜鹃花‘白凤 4 号’在 4 种处理下的植株叶片混合样本转录组数据构建参照文库,分析叶片的转

表 1 6 个转录因子的 RT-qPCR 引物

Table 1 qRT-PCR primers of 6 TFs

基因 Gene	log ₂ Ratio	表达 Expression	引物序列 Primer sequence (5'→3')
Unigene0010741	-4.823	下调 Down	F1: TATCCCAGCCACGGTATCG R1: CTGATTCACGCACTTTGTTCG
Unigene0000760	11.478	上调 Up	F3: CCAATGGAAGGACTTTACAACG R3: TGTTGTTTCCTCCGCTCCA
Unigene0011014	12.262	上调 Up	F5: AGCCGCTTTTTCTACGACA R5: ATCTGACCCCTTCTGTGTTCC
Unigene0032946	-4.354	下调 Down	F8: CTGAAAGAAAGCAGCAGCACA R8: GCTCAGACACTCCAAACCCAC
Unigene0010741	-4.298	下调 Down	F9: TATCCCAGCCACGGTATCG R9: CTGATTCACGCACTTTGTTCG
Unigene0048411	-5.467	下调 Down	F16: ATGGCGGACAGAAGGATGG R16: AAGCCCTTGAGTGTCTTTAGCC
<i>Actin</i>			F: GCAACGGATATCTCGGCTCTCGC R: GGATGGCCTCGGGCGCAACT

录组表达谱信息,不同处理间共得到了 962~12 558 个差异表达基因(differential expression genes, DEGs) (表 2),其中对照与中等干旱处理间的 DEGs 最少,而严重干旱和复水处理间的 DEGs 最多。

将这些差异表达基因通过 BLAST 与 Nr 库进行比对,总共有 505 个转录因子(图 1),其中含有转录因子最多的是严重干旱与复水处理间(161 个,占本组 DEGs 总数的 1.3%),其次是对照和严重干旱处理间(101 个,占 2.6%),最少的是对照与中等干旱处理间(34 个,占 3.7%)。进一步分析表明,与对照相比,随着干旱程度加深直至复水,转录因子的数量呈先上升后下降的趋势,且转录因子都以上调表达为主。与中等干旱相比,从严重干旱到复水,转录因子数量下降,但仍以上调表达为主。特别值得关注的是,复水与严重干旱相比,转录因子数量骤然增加,且以下调表达为主。

2.2 转录因子家族统计分析

在获得转录因子数量基本信息后,进一步统计分析转录因子家族及其成员的数量关系。差异表达基因数量排名前 5 位的家族共有 254 个转录因子,占转录因子总数(505 个)的一半以上(图 2),其中 ERF 家族(75 个)、WRKY 家族(56 个)、bHLH 家族(50 个)、MYB 家族(42 个)和 bZIP 家族(13 个)占 92.9%,且干旱处理的差异表达转录因子都比复水处理的多,而 NAC 和 PLATZ 家族转录因子只在干旱处理中差异表达, GATA 家族转录因子则只在复水处理中差异表达。

2.3 转录因子表达情况统计分析

由表 3 可知,ERF、bHLH 和 MYB 等 3 个家族在干旱和复水处理都有上调和下调表达的基因,WRKY 和 PLATZ 家族基因在干旱胁迫中只上调表

表 2 差异表达基因的统计

Table 2 Statistic of differential expression genes

处理 Treatment	上调 Up	下调 Down	总和 Total
对照 Control 中等干旱 Middle drought	602	360	962
对照 Control 严重干旱 Severe drought	2 281	1 593	3 874
对照 Control 复水 Rewatering	2 964	858	3 822
中等干旱 Middle drought 严重干旱 Severe drought	2 156	1 336	3 492
中等干旱 Middle drought 复水 Rewatering	6 235	1 342	7 577
严重干旱 Severe drought 复水 Rewatering	9 098	3 460	12 558

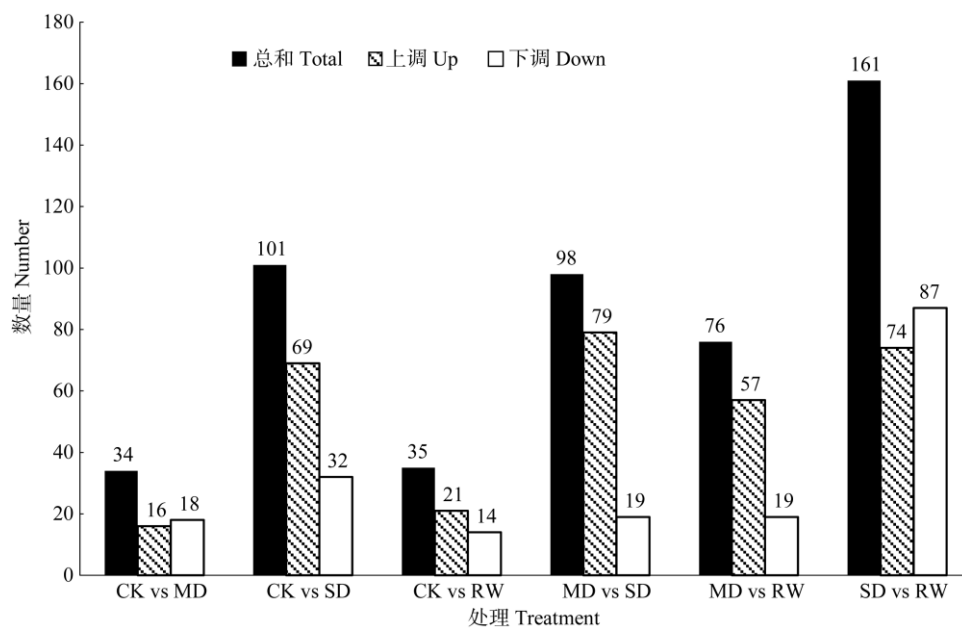


图 1 干旱处理的转录因子数量。CK: 对照; MD: 中等干旱; SD: 严重干旱; RW: 复水。下同。

Fig. 1 Number of transcription factors under drought stress. CK: Control; MD: Middle drought; SD: Severe drought; RW: Rewatering. The same is following Figure.

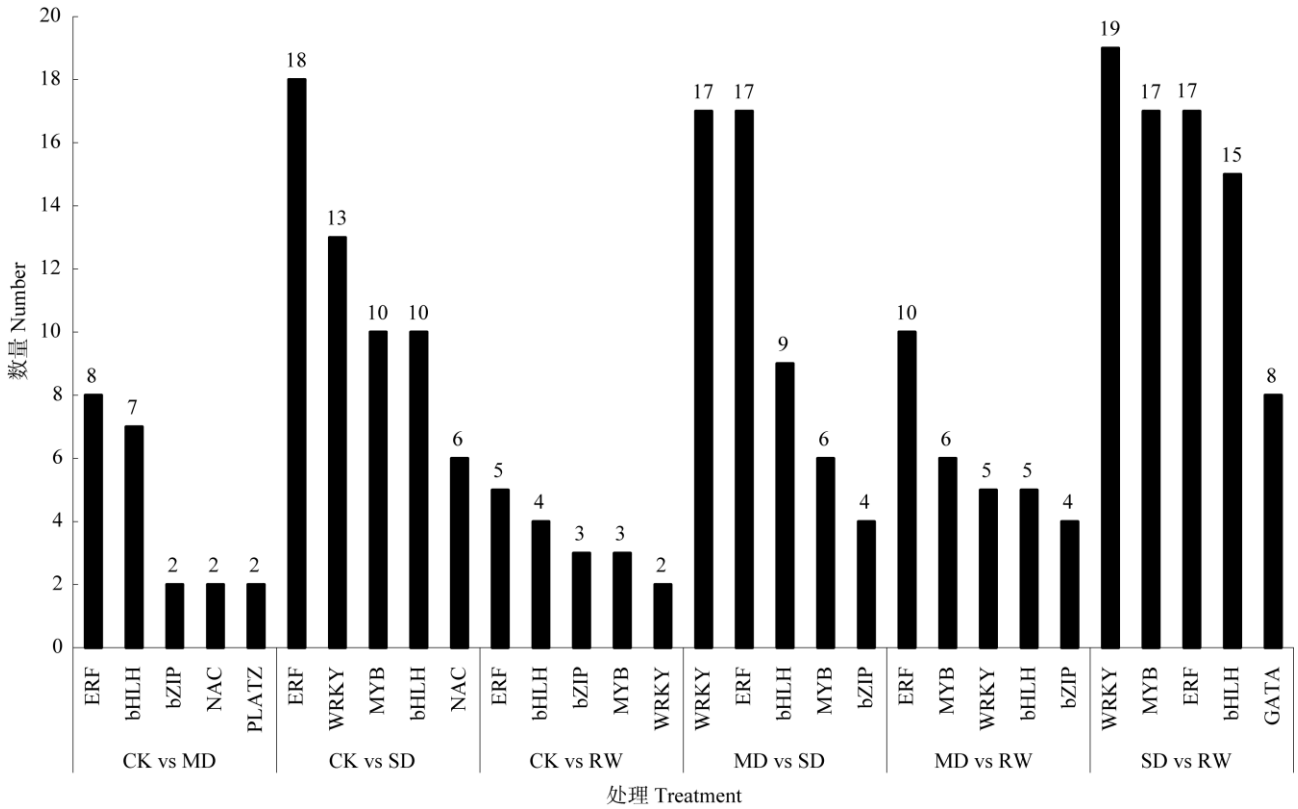


图 2 差异表达基因数量居前 5 位的转录因子家族统计

Fig. 2 Statistic of top five transcription factor families with DEGs

表 3 差异表达基因数量居前 5 位的家族基因转录因子数量

Table 3 Number of transcription factor in top 5 families with DEGs

处理 Treatment		表达 Expression	家族基因转录因子数量 Number of transcription factor in gene family				
对照 CK	中等干旱 Middle drought		ERF	bHLH	bZIP	NAC	PLATZ
		上调 Up	6	1	2	1	2
对照 CK	严重干旱 Severe drought		ERF	WRKY	MYB	bHLH	NAC
		上调 Up	12	13	4	5	5
中等干旱 Middle drought	严重干旱 Severe drought		WRKY	ERF	bHLH	MYB	bZIP
		上调 Up	17	14	7	3	4
对照 CK	复水 Rewatering		ERF	bHLH	bZIP	MYB	WRKY
		上调 Up	1	1	3	1	1
中等干旱 Middle drought	复水 Rewatering		ERF	MYB	WRKY	bHLH	bZIP
		上调 Up	5	6	4	5	4
严重干旱 Severe drought	复水 Rewatering		WRKY	MYB	ERF	bHLH	GATA
		上调 Up	19	11	3	9	6

达, 且 PLATZ 家族基因只在中等干旱时差异表达, bZIP 家族基因在干旱和复水处理都只上调表达, GATA 则通过基因的上调和下调响应旱后复水的刺激。

2.4 高表达转录因子分析

从表 4 可见, 差异表达基因在干旱处理和复水处理中的表达量 ($|\log_2(\text{Fold change})| \geq 4$) 分别为 $-4.707 \sim 13.216$ 、 $-4.545 \sim 10.749$ 和 $-11.911 \sim 4.357$, 且在干旱处理中以上调表达为主, 在复水处理中以下调表达为主。其中, 上调表达最显著的是 NF-Y 家族基

因; 其次是 ERF 家族基因。下调表达最显著的是 ERF 类转录因子, 在复水处理中下调最为显著。此外, 在干旱处理中 bZIP 家族基因的上调表达及热应激转录因子 HsF 家族基因的差异表达也比较显著。

2.5 差异表达转录因子 Real-time PCR 验证

随机选取 2 个上调表达和 4 个下调表达的转录因子, 用 Real-time PCR 方法验证测序数据的有效性(表 5)。结果表明, 6 个转录因子在不同处理中的表达趋势与转录组结果一致, 从而验证了转录组测序数据的有效性。

表 4 高表达的转录因子

Table 4 Highly expressed genes in three comparison groups

对照 CK	处理 Treatment	基因号 Gene ID	\log_2 Ratio	表达 Expression	家族 Family		
对照 CK	严重干旱 Severe drought	Unigene0046348	-4.707	下调 Down	ERF		
		Unigene0032946	-4.162	下调 Down	HsF		
		Unigene0010315	-4.112	下调 Down	ERF		
		Unigene0003704	4.562	上调 Up	ERF		
		Unigene0014934	4.643	上调 Up	ERF		
		Unigene0050240	4.849	上调 Up	ERF		
		Unigene0020993	4.887	上调 Up	WRKY		
		Unigene0050469	5.284	上调 Up	NAC		
		Unigene0036536	5.666	上调 Up	ERF		
		Unigene0028197	6.278	上调 Up	bZIP		
		Unigene0008122	10.913	上调 Up	bZIP		
		Unigene0000760	11.478	上调 Up	HsF		
		Unigene0053268	11.911	上调 Up	ERF		
		Unigene0011014	12.262	上调 Up	ERF		
		Unigene0046231	13.216	上调 Up	NF-Y		
中等干旱 Middle drought	严重干旱 Severe drought	Unigene0025366	-4.545	下调 Down	HSF		
		Unigene0032946	-4.354	下调 Down	HsF		
		Unigene0010741	-4.298	下调 Down	ORG		
		Unigene0010315	-4.048	下调 Down	ERF		
		Unigene0000760	4.491	上调 Up	HsF		
		Unigene0003704	4.613	上调 Up	ERF		
		Unigene0053024	5.167	上调 Up	bHLH		
		Unigene0050240	5.998	上调 Up	ERF		
		Unigene0046231	6.760	上调 Up	NF-Y		
		Unigene0012598	10.749	上调 Up	ERF		
		严重干旱 Severe drought	复水 Rewatering	Unigene0053268	-11.911	下调 Down	ERF
				Unigene0050469	-5.855	下调 Down	NAC
Unigene0000760	-5.658			下调 Down	HsF		
Unigene0050240	-5.071			下调 Down	ERF		
Unigene0008122	-4.923			下调 Down	bZIP		
Unigene0011014	-4.747			下调 Down	ERF		
Unigene0036536	-4.360			下调 Down	ERF		
Unigene0003704	-4.208			下调 Down	ERF		
Unigene0053024	-4.146			下调 Down	bHLH		
Unigene0050958	4.357			上调 Up	NF-Y		

表 5 差异表达转录因子的 RT-qPCR 验证

Table 5 RT-qPCR validation of differential expression transcription factors

基因号 Gene ID	处理 Treatment	相对表达量 Relative expression	RPKM
Unigene0010741	对照 CK	1.008±0.073	22.139
	严重干旱 Severe drought	0.223±0.017	15.329
Unigene0000760	对照 CK	1.030±0.185	0.001
	严重干旱 Severe drought	3.530±0.307	0.127
Unigene0011014	对照 CK	1.010±0.105	0.001
	严重干旱 Severe drought	7.119±0.696	0.316
Unigene0032946	中等干旱 Middle drought	1.066±0.225	50.804
	严重干旱 Severe drought	0.755±0.039	2.484
Unigene0010741	中等干旱 Middle drought	1.017±0.100	15.379
	严重干旱 Severe drought	0.067±0.015	0.782
Unigene0048411	中等干旱 Middle drought	1.022±0.113	3.342
	复水 Rewatering	0.733±0.140	0.878

3 结论和讨论

随着转录组测序技术的飞速发展和多个生物信息平台的加入,即使在基因组数据的前提下,转录组测序结果也可以为明确植物特定生理功能相关的代谢途径、挖掘未知基因及明晰基因调控机制提供大量信息。利用该技术,前人已挖掘了陆地棉(*Gossypium hirsutum*)^[15]、枇杷(*Eriobotrya japonica*)^[16]和梭梭(*Haloxylon ammodendron*)^[17]等作物中的抗逆基因,并分析了相关基因的调控机制。

本研究中,杜鹃花协同调动了 *ERF*、*bHLH*、*MYB* 基因的差异表达来响应干旱胁迫和水分刺激,而在面临干旱胁迫时,增加 *NAC* 的差异表达和 *WRKY*、*bZIP*、*PLATZ* 上调表达来协同响应;在水分刺激下,则偏向于增加 *GATA* 的差异表达来协同调节。同时,在不同水分条件下,*NF-Y* 家族基因的差异表达尤其明显,这说明这些转录因子在杜鹃花在应对干旱胁迫和水分刺激中具有重要调节作用。

PLATZ 和 *GATA* 同属锌指蛋白,前者含有 2 个锌指结构域: C-X₂-H-X₁₁-C-X₂-C-X₍₄₋₅₎-C-X₂-CX₍₃₋₇₎-H-X₂-H 和 C-X₂-C-X₍₁₀₋₁₁₎-C-X₃-C^[18],而后者在大多数植物中只含有 1 个锌指结构域 C-X₂-C-X₁₈-C-X₂-C^[19]。这两类基因在植物抗逆中的作用研究相对较少,但其调控作用已得到验证。有研究表明,大豆(*Glycine max*)中 *GmPLATZ1* 可以被干旱、盐和 ABA 诱导表达^[20],水稻(*Oryza sativa*)中的 *GATA* 响应冷处理^[21]并能被 ABA 诱导表达^[22],茉莉酸甲酯处理的穆(*Eleusine coracana*)中 *GATA* 基因可以通过与 *JAZ* 互作调控茉莉酸信号的转导^[23]。

NF-Y 类转录因子,含有 3 个亚基(*NF-YA*、*NF-YB* 和 *NF-YC*),这 3 个亚基形成异源三聚体后特异地结合真核生物启动子元件 CCAAT 盒,从而调控基因的转录,行使复杂的调控作用^[24]。*NF-Y* 三聚体及其亚基参与抗旱调节已在拟南芥(*Arabidopsis*)、大豆、大白菜(*Brassica pekinensis*)和小麦(*Triticum aestivum*)等植物中得到了验证。而且这种调控作用可能是通过参与 ABA 的合成和信号转导^[25]、调控植物叶片的气孔开度^[26]、促进脯氨酸的积累^[27]、增加叶片叶绿素和可溶性蛋白含量^[28]以及提高植物抗氧化能力^[29]来实现的。同时,在植物抗旱中,*NF-Y* 转录因子的转录还受到 MicroRNAs 的调节^[25]和 *bZIP* 转录因子的协调作用^[30]。

由此可见,*ERF*、*bHLH*、*MYB*、*WRKY*、*NAC* 及 *bZIP* 等转录因子在杜鹃花干旱胁迫和水分刺激应答中可能起着主导作用,同时这些转录因子与 *PLATZ*、*GATA* 以及 *NF-Y* 等其他家族转录因子之间可能存在共表达性或协同作用,从而形成复杂且精细的调控网络来响应不同水分条件的刺激。

综上所述,本研究借助转录组测序技术,分析了干旱和复水处理中杜鹃‘白凤 4 号’叶的转录因子种类和表达规律,将为下一步筛选杜鹃花抗旱关键基因、研究杜鹃花干旱胁迫应答调控网络和分子育种等提供理论依据。

参考文献

- [1] WU J, WANG L F, LI L, et al. *De novo* assembly of the common bean transcriptome using short reads for the discovery of drought-responsive genes [J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0119369. doi: 10.1371/journal.pone.

- 0119369.
- [2] LI C, SU J L, LIU X Q, et al. Effects of drought stress on seed germination and seedling physiological characteristics of *Rhododendron latoucheae* [J]. *Acta Bot Boreali-Occid Sin*, 2015, 35(7): 1421–1427. doi: 10.7606/j.issn.1000-4025.2015.07.1421.
- 李畅, 苏家乐, 刘晓青, 等. 干旱胁迫对鹿角杜鹃种子萌发和幼苗生理特性的影响 [J]. *西北植物学报*, 2015, 35(7): 1421–1427. doi: 10.7606/j.issn.1000-4025.2015.07.1421.
- [3] GAO X N, ZHAO B, LIU X M, et al. Physiological response to drought stress and drought resistance evaluation of four *Rhododendron* cultivars [J]. *J Zhejiang Agric For Univ*, 2017, 34(4): 597–607. doi: 10.11833/j.issn.2095-0756.2017.04.005.
- 高晓宁, 赵冰, 刘旭梅, 等. 4个杜鹃花品种对干旱胁迫的生理响应及抗旱性评价 [J]. *浙江农林大学学报*, 2017, 34(4): 597–607. doi: 10.11833/j.issn.2095-0756.2017.04.005.
- [4] TANG F Y, JIN H X, TANG Y L. Effects of different drought stress on chlorophyll fluorescence of four *Rhododendron* cultivars [J]. *J NW For Univ*, 2017, 32(5): 64–68, 108. doi: 10.3969/j.issn.1001-7461.2017.05.12.
- 汤飞洋, 金荷仙, 唐宇力. 不同程度干旱胁迫对4个杜鹃品种叶绿素荧光参数的影响 [J]. *西北林学院学报*, 2017, 32(5): 64–68, 108. doi: 10.3969/j.issn.1001-7461.2017.05.12.
- [5] FERNÁNDEZ-MARTÍNEZ J, FRANSI M A, FLECK I. Ecophysiological responses of *Betula pendula*, *Pinus uncinata* and *Rhododendron ferrugineum* in the catalan pyrenees to low summer rainfall [J]. *Tree Physiol*, 2016, 36(12): 1520–1535. doi: 10.1093/treephys/tpw104.
- [6] KIDOKORO S, WATANABE K, OHORI T, et al. Soybean *DREB1/CBF*-type transcription factors function in heat and drought as well as cold stress-responsive gene expression [J]. *Plant J*, 2015, 81(3): 505–518. doi: 10.1111/tpj.12746.
- [7] AMBAWAT S, SHARMA P, YADAV N R, et al. *MYB* transcription factor genes as regulators for plant responses: An overview [J]. *Physiol Mol Biol Plants*, 2013, 19(3): 307–321. doi: 10.1007/s12298-013-0179-1.
- [8] FENG B, ZHU T F, ZHANG C, et al. Expression characteristics of poplar *MYB* gene in response to abiotic stresses [J]. *J NE For Univ*, 2017, 45(4): 19–22. doi: 10.13759/j.cnki.dlxb.2017.04.004.
- 冯波, 朱腾飞, 张弛, 等. 杨树 *MYB* 基因应答非生物胁迫的表达特性 [J]. *东北林业大学学报*, 2017, 45(4): 19–22. doi: 10.13759/j.cnki.dlxb.2017.04.004.
- [9] MENG C M, ZHANG T Z, WANG Z G. Molecular cloning and characterization of a novel *Gossypium hirsutum* L. *bHLH* gene in response to ABA and drought stresses [J]. *Plant Mol Biol Rep*, 2009, 27(3): 381–387. doi: 10.1007/s11105-009-0112-5.
- [10] ZHANG L, ZHANG T, TAN D F, et al. Isolation and drought induced expression characterization of *ZmNAC99* gene from maize [J]. *Acta Bot Boreali-Occid Sin*, 2017, 37(4): 629–635. doi: 10.7606/j.issn.1000-4025.2017.04.0629.
- 张丽, 张庭, 谭登峰, 等. 玉米 *ZmNAC99* 基因的克隆及干旱诱导表达分析 [J]. *西北植物学报*, 2017, 37(4): 629–635. doi: 10.7606/j.issn.1000-4025.2017.04.0629.
- [11] SHI W N, HAO L L, LI J, et al. The *Gossypium hirsutum* WRKY gene *GhWRKY39-1* promotes pathogen infection defense responses and mediates salt stress tolerance in transgenic *Nicotiana benthamiana* [J]. *Plant Cell Rep*, 2014, 33(3): 483–498. doi: 10.1007/S00299-013-1548-5.
- [12] HUANG W, SHANG Y F, CHEN P L, et al. Basic leucine zipper (bZIP) domain transcription factor MBZ1 regulates cell wall integrity, spore adherence, and virulence in *Metarhizium robertsii* [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(13): 8218–8231. doi: 10.1074/jbc.M114.630939.
- [13] DOSSA K, WEI X, LI D H, et al. Insight into the *AP2/ERF* transcription factor superfamily in sesame and expression profiling of DREB subfamily under drought stress [J]. *BMC Plant Biol*, 2016, 16: 171. doi: 10.1186/s12870-016-0859-4.
- [14] GOLLDACK D, LÜKING I, YANG O. Plant tolerance to drought and salinity: Stress regulating transcription factors and their functional significance in the cellular transcriptional network [J]. *Plant Cell Rep*, 2011, 30(8): 1383–1391. doi: 10.1007/s00299-011-1068-0.
- [15] PENG Z, HE S P, GONG W F, et al. Transcriptome analysis of transcription factors in upland cotton seedlings under NaCl stress [J]. *Acta Agron Sin*, 2017, 43(3): 354. doi: 10.3724/SP.J.1006.2017.00354.
- 彭振, 何守朴, 龚文芳, 等. 陆地棉幼苗 NaCl 胁迫下转录因子的转录组学分析 [J]. *作物学报*, 2017, 43(3): 354–370. doi: 10.3724/SP.J.1006.2017.00354.
- [16] YANG W, GONG R G, SHI J J, et al. *De novo* assembly and functional annotation of the loquat young fruit transcriptome under chilling stress [J]. *J NW Agric For Univ (Nat Sci)*, 2014, 42(8): 138–146. doi: 10.13207/j.cnki.jnwafu.2014.08.013.
- 杨伟, 龚荣高, 石佳佳, 等. 低温胁迫下枇杷幼果转录组的 *De novo* 组装和功能注释 [J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2014, 42(8): 138–146. doi: 10.13207/j.cnki.jnwafu.2014.08.013.
- [17] HAN C, XIE W H, LI J G, et al. Gene expression profile of haloxylon branch under the stresses of drought and heat in summer season [J]. *Genom Appl Biol*, 2015, 34(3): 607–614. doi: 10.13417/j.gab.034.000607.
- 韩超, 谢文华, 李建贵, 等. 夏季高温干旱逆境下梭梭枝条中转录组表达谱分析 [J]. *基因组学与应用生物学*, 2015, 34(3): 607–614. doi: 10.13417/j.gab.034.000607.
- [18] NAGANO Y, FURUHASHI H, INABA T, et al. A novel class of plant-

- specific zinc-dependent DNA-binding protein that binds to A/T-rich DNA sequences [J]. *Nucl Acid Res*, 2001, 29(20): 4097–4105. doi: 10.1093/nar/29.20.4097.
- [19] REYES J C, MURO-PASTOR M I, FLORENCIO F J. The *GATA* family of transcription factors in *Arabidopsis* and rice [J]. *Plant Physiol*, 2004, 134(4): 1718–1732. doi: 10.1104/pp.103.037788.
- [20] SO H A, CHOI S J, CHUNG E, et al. Molecular characterization of stress-inducible *PLATZ* gene from soybean (*Glycine max* L.) [J]. *Plant Omics J*, 2015, 8(6): 479–484.
- [21] ZHANG T, HUANG L Y, WANG Y X, et al. Differential transcriptome profiling of chilling stress response between shoots and rhizomes of *Oryza longistaminata* using RNA sequencing [J]. *PLoS One*, 2017, 12(11): e0188625. doi: 10.1371/journal.pone.0188625.
- [22] GUPTA P, NUTAN K K, SINGLA-PAREEK S L, et al. Abiotic stresses cause differential regulation of alternative splice forms of *GATA* transcription factor in rice [J]. *Front Plant Sci*, 2017, 8: 1944. doi: 10.3389/fpls.2017.01944.
- [23] SEN S, KUNDU S, DUTTA S K. Proteomic analysis of JAZ interacting proteins under methyl jasmonate treatment in finger millet [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2016, 108: 79–89. doi: 10.1016/j.plaphy.2016.05.033.
- [24] DOLFINI D, ZAMBELLI F, PAVESI G, et al. A perspective of promoter architecture from the CCAAT box [J]. *Cell Cycle*, 2009, 8(24): 4127–4137. doi: 10.4161/cc.8.24.10240.
- [25] NI Z Y, HU Z, JIANG Q Y, et al. *GmNFYA3*, a target gene of miR169, is a positive regulator of plant tolerance to drought stress [J]. *Plant Mol Biol*, 2013, 82(1/2): 113–129. doi: 10.1007/s11103-013-0040-5.
- [26] MU J Y, TAN H L, HONG S L, et al. *Arabidopsis* transcription factor genes *NF-YA1*, 5, 6 and 9 play redundant roles in male gametogenesis, embryogenesis, and seed development [J]. *Mol Plant*, 2013, 6(1): 188–201. doi: 10.1093/mp/sss061.
- [27] HUANG R H, WANG G X, LIU F. Cloning and functional analysis of a drought-responsive gene *BpNFYA5* from Chinese cabbage [J]. *Acta Hort Sin*, 2012, 39(8): 1501–1510. doi: 10.16420/j.issn.0513-353x.2012.08.010.
- 黄人卉, 王桂香, 刘凡. 大白菜耐旱相关基因 *BpNFYA5* 的克隆及功能初步分析 [J]. *园艺学报*, 2012, 39(8): 1501–1510. doi: 10.16420/j.issn.0513-353x.2012.08.010.
- [28] YANG J, ZHU J H, YANG Y X. Genome-wide identification and expression analysis of *NF-Y* transcription factor families in watermelon (*Citrullus lanatus*) [J]. *J Plant Growth Regul*, 2017, 36(3): 590–607. doi: 10.1007/s00344-017-9670-1.
- [29] KUMIMOTO R W, SIRIWARDANA C L, GAYLER K K, et al. Nuclear factor Y transcription factors have both opposing and additive roles in ABA-mediated seed germination [J]. *PLoS One*, 2013, 8(3): e59481. doi: 10.1371/journal.pone.0059481.
- [30] LIU J X, HOWELL S H. bZIP28 and NF-Y transcription factors are activated by ER stress and assemble into a transcriptional complex to regulate stress response genes in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2010, 22(3): 782–796. doi: 10.1105/tpc.109.072173.