

Literature Review of Plant WRKY Transcription Factors

Chao Liu, Jie Yuan, Liuxin Xiang*

Chongqing University of Posts and Telecommunications, Chongqing
Email: 739381826@qq.com, *xianglx@cqupt.edu.cn

Received: Aug. 8th, 2020; accepted: Aug. 20th, 2020; published: Aug. 27th, 2020

Abstract

Plants in the process of growth and development will be affected by the regulation of transcription factors in the body to adapt to the changes in the environment. The WRKY family in plants is ranked second transcription factor family, and every member in the family has a highly conserved WRKY domain, which can combine with W box to regulate the expression of downstream target genes and involve in plant stress responses, growth and development. In China, cotton is the second largest crop after food. With the completion of the genome sequencing of cotton, the genome-wide analysis and gene function research of cotton WRKY transcription factor genes have been carried out in recent years. The review of the research progress of cotton WRKY transcription factors in this paper will provide a new perspective for the future research of cotton WRKY transcription factors.

Keywords

Cotton, WRKY Transcription Factor, Biological Function, Whole Genome Analysis

棉花WRKY转录因子研究进展

刘超, 袁洁, 向浏欣*

重庆邮电大学, 重庆
Email: 739381826@qq.com, *xianglx@cqupt.edu.cn

收稿日期: 2020年8月8日; 录用日期: 2020年8月20日; 发布日期: 2020年8月27日

摘要

植物在生长发育过程中会受到体内转录因子的调控以适应环境的变化, 而WRKY家族是植物中数量排名

*通讯作者。

第二的转录因子大家族，该家族每个成员都有一个高度保守的WRKY结构域，能与W盒特异性结合，调控下游目标基因的表达，参与植物的胁迫反应、生长发育等。棉花在我国是仅次于粮食的第二大农作物，随着棉花全基因组测序完成，近年来棉花WRKY转录因子的全基因组分析和基因功能研究得以开展，本文对棉花WRKY转录因子研究进展的综述将对棉花WRKY转录因子的后续研究方向提供新视角。

关键词

棉花，WRKY转录因子，生物学功能，全基因组分析

Copyright © 2020 by author(s) and Hans Publishers Inc.

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

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



Open Access

1. 引言

转录因子是一种具有特殊结构的蛋白质分子，它具有 DNA 结合域可以与基因 5'端上游某些顺式作用元件特异性结合，对基因的转录起抑制或激活作用。一个典型的转录因子结构应当包括：DNA 的结合位点，转录激活域/转录抑制域，寡聚合位点以及细胞核定位点等几个功能结构域[1]。转录因子在所有植物基因组中有相当高的比例，如 NAC、WRKY、MYB、bHLH、bZIP 等多个转录因子家族，其靶基因广泛参与植物发育和胁迫防御等生理过程[2]。

WRKY 转录因子仅次于 NAC 转录因子家族，为第二大转录因子家族[3]。至目前，WRKY 转录因子在多种植物中被科学家们研究，如拟南芥、水稻、小麦、葡萄等，发现其参与植物的生长发育、衰老调节、抗病、抗机械损伤、非生物胁迫响应、植物激素反应等。棉花在我国是仅次于粮食的第二大农作物，但我国原棉总量与品级无法满足纺织需求，每年还需大量进口原棉。随着 2012 年至 2015 年亚洲棉、雷蒙德氏棉、陆地棉和海岛棉全基因组测序的陆续完成，WRKY 转录因子在棉花中的分析和研究近年得到不少成果，如功能研究发现其在棉花生长发育、非生物胁迫和抗病中发挥作用。本文首先总结了 WRKY 转录因子的起源与结构特征，然后综述了其在棉花中的研究进展，为 WRKY 转录因子在棉花中的后续研究方向提供新视角和基础。

2. WRKY 转录因子的起源与结构

2.1. WRKY 转录因子的起源

1994 年，科学家们鉴定出第一个 WRKY 转录因子——SPF1，它在甘薯的根块中表达，可以结合在三个分别编码储藏蛋白和 β -淀粉酶的基因启动子上[4]。后来，科研人员也在其他植物中发现了 WRKY 转录因子。最初，人们一直认为 WRKY 转录因子是植物所特有的，直到 2005 年从单细胞原生生物蓝氏贾第鞭毛虫、粘菌——盘基网柄菌和单细胞绿藻——莱因哈德衣藻中证实也含有可能编码 WRKY 基因的序列[5] [6] [7]。因此推测，在真核生物出现以后、蓝氏贾第鞭毛虫存在之前，WRKY 基因就已经进化形成了[5]。

2.2. WRKY 转录因子的结构

2.2.1. WRKY 转录因子的结构域特征

随着生物信息学的发展和测序技术的成熟，WRKY 转录因子在许多植物中被鉴定并进行全基因组分析，在各种植物中的数量都不一样，最新更新的数据显示，在春小麦中鉴定了 297 个 WRKY 基因[8]，

甜菜中有 58 个[9], 胡椒中有 62 个[10], 枣中有 54 个[11]。这些 WRKY 蛋白都约由 58~60 个氨基酸组成, 含有两个明显的结构特征, 一个是位于 N 端的高度保守的 WRKYGQK 特征结构序列, 另一个是位于 C 端的锌指结构 C_2H_2 或者 C_2HC 。靠近 N 末端的 7 个保守氨基酸残基 WRKYGQK 被视为 WRKY 结构域的核心, 它们的变异往往导致 DNA 的结合活性减弱或者丧失[12]; 羧基 C 末端的锌指类似结构在植物的进化中可能起到重要作用[13]。WRKY 结构域虽然高度保守, 但在某些 WRKY 蛋白中, 还是存在许多变异的情况, 比如 WRKYGEK、WRKYGKK、WRICGQC、WRMCGQK、WKKYGQK、WIKYGQK、WKRYGQK、WSKYEQK、WRKYSEK 等[14]。

2.2.2. WRKY 家族的分类

人们根据 WRKY 结构域的数量和锌指基序的类型, 将 WRKY 转录因子家族主要分为三个组: 组 I, 组 II 和组 III, 第 I 组 WRKY 蛋白包含两个 WRKY 结构域, 第 II 组和 III 组均只包含一个 WRKY 结构域, 第 II 组的锌指结构基序为 C_2H_2 , 第 III 组的锌指结构基序为 C_2HC , 而第 II 组 WRKY 蛋白又可根据系统发育分析方法进一步分为 5 个亚组: IIa、IIb、IIc、IId、IIe [15]。通常在同一种植物中, 大多数 WRKY 转录因子属于第 II 组, 第 II 组又细分为 5 个小亚组, 所以第 II 组成员的数量相对较多, 而第 I 组和第 III 组成员数量要少一些。

2.2.3. WRKY 结构域与 W-盒

WRKY 转录因子能与基因启动子区域内某段特定的碱基序列结合, 这段特定的碱基序列被称为 W-盒。W-盒的核心序列是 TTGACC/T 片段, 其中 TGAC 高度保守[16] [17]。曾报道其中一个核苷酸的突变都将使转录因子与基因的结合活性明显降低甚至完全消失[18]。说明 TGAC 这段碱基核心序列对于与 WRKY 转录因子的特异性结合来说至关重要且必不可少。在植物受到病原菌侵害时, 植物体内许多基因表达调控, 参与防卫反应, 而这些基因的启动子区域内常常含有 W-盒。一些防御相关的基因, 如 PR、NPRI 基因, 启动子区域都包含 w-盒元件[19] [20]。与此同时, 某些 WRKY 转录因子本身的启动子区域内也含有 W-盒, 例如研究人员在陆地棉 GhWRKY42 基因本身就发现有 W 盒[21]。

3. 棉花 WRKY 转录因子研究进展

3.1. 棉花 WRKY 转录因子全基因组分析

陆地棉与藻类植物(红藻、绿藻)、苔藓植物、单子叶植物(玉米、稻)、和双子叶植物(毛果、拟南芥)等的 WRKY 结构域一起构建进化树, 分组发现 II 组成员形成三个不同的分支: IIa + IIb 组, IIc, IId + IIe 组, 其中 IIa、IIb 组密切相关, IId、IIe 组紧密联系[22]。这种组内紧密的关系在雷蒙德氏棉中也发现了, 先前研究人员用雷蒙德氏棉的 WRKY 结构域与拟南芥结构域一起构建进化树, 分析发现 IIa 组和 IIb 组的基因密切相关, IId 组的基因与 IIe 组聚在一起[23]。

此外, 在陆地棉与藻类、苔藓、单双子叶植物的进化树中还发现 IIa + IIb 组、IIc 组都与 IC 组紧密相关, 同时, IId + IIe 组与 III 组密切相关。有趣的是, 藻类, 石松植物(lycophyta)和苔藓植物的 WRKY 结构域主要分为 IC、IIc、IIb、IN、IId 和 III 类, 没有划入 IIa 组。这种现象可能表明 IIa 组可能从 IIb 组演化而来的, 这说明 IIb、IIc、IId、III 组可能是由 I 组演化而来[22]。在水稻中, 报道了水稻中的某些 II 组 WRKY 基因可能是通过丢失 N 或 C 端 WRKY 结构域而从 I 组进化而来的[24]。研究人员将雷蒙德氏棉与亚洲棉的 WRKY 结构域进行比对支持这一假设, 并表明在棉花中, IId 和 III 组 WRKY 基因可能在丢失 N 端或 C 端 WRKY 结构域后从 I 组进化而来[25]。

在雷蒙德氏棉中, 基于序列比较和进化树分析, 发现 IIc 组中的基因比其他 WRKY 组中的基因共享更多的变异(80%), 这表明 IIc 组中的 WRKY 基因比其他 II 组中的基因更加活跃和可变[23]。对雷蒙德氏

棉各组进行功能差异分析,以查看各组之间是否存在任何潜在的重要氨基酸残基的功能差异,结果表明,雷蒙德氏棉第 III 类 WRKY 基因可能具有不同的功能,在这些组中,与 IIc 组基因相比,第 I 组 WRKY 基因氨基酸变异最少,仅具有一个位点改变的,但是,在 IIa 组到 IIe 组中,有许多位点改变导致序列之间的功能差异,例如在 IIb 和 IIc 之间鉴定出 21 个位点,在 IIa 和 IIe 之间鉴定出 13 个位点,在 IIa-IIe 亚组中,检测到的这些功能上重要的氨基酸位点被取代,表明 IIa-IIe 组基因的功能可能已经独立进化[25]。

在雷蒙德氏棉与亚洲棉的 WRKY 基因的蛋白序列构建的进化树中,第 III 组 WRKY 基因的数量与拟南芥,可可和葡萄中相似,但在 I 和 IIa-IIe 组中含有几乎可可、葡萄两倍的 WRKY 基因,这主要是因为棉花进化过程中发生了大规模的复制事件,并促进了 WRKY 基因的扩增,主要是 I 和 IIa - IIe 组中 WRKY 基因扩增的结果[25]。亚洲棉的 WRKY 基因可能由于保守的二倍体 A 组和 D 组 WRKY 蛋白水平较高,从而与 G.雷蒙德氏 WRKY 基因共享相同的亲缘关系[25]。在二倍体棉花雷蒙德氏棉和亚洲棉之间比较 A 染色体和 D 染色体 WRKY 基因的基因和蛋白质序列,发现两个二倍体棉种之间存在相似的基因结构。该结果还与以下事实相吻合:在外显子区域中检测到较少的 SNP,并且 WRKY 核心域中的蛋白质氨基酸较少变化。这些结果说明在亚洲棉和 G.雷蒙德氏棉中 WRKY 基因功能较保守的。相比雷蒙德氏棉,亚洲棉的第一类中的一个 WRKY 结构域显示出许多变化,说明该结构域可能进化出了一种新功能[25]。

3.2. 棉花 WRKY 转录因子的功能研究

在棉花中,WRKY 转录因子参与植物的生长发育与胁迫反应。在生长发育和衰老方面,研究人员分离并鉴定了来自陆地棉的 IIc 亚组基因 *GhWRKY42*,检测到 *GhWRKY42* 在病毒诱导的基因沉默(VIGS)植物的茎中表达水平较高,并且增强了 GUS 活性,降低了植物株高,因此,推测 *GhWRKY42* 可能与茎发育有关[21]。在早衰棉花品种 CCRI10 和非早衰品种 Liao4086 的子叶样品中检测到 *GhWRKY42* 的表达水平,qRT-PCR 的结果显示,在转录水平 *GhWRKY42* 在 CCRI10 品种子叶逐渐衰老过程中增加,并且均显著高于 Liao4086 品种,因此, *GhWRKY42* 可能参与衰老过程,并可能在叶片衰老过程中发挥积极的调节作用[21]。对陆地棉 IIa 组成员进行表达谱分析,在叶片衰老的不同时期检测不同组织中 IIa 组 GhWRKY 基因的表达,发现 GhWRKY49, GhWRKY168 和 GhWRKY169 在圆环中高度表达,表明在花发育中具有潜在作用[26]。qRT-PCR 结果表明,IIa 组 GhWRKY17, GhWRKY39 和 GhWRKY140 在花器官和茎中表现出高表达水平,并且在叶片衰老的初期也高表达,因此,推测这三个高表达基因在调节棉花发育和叶片衰老中起重要作用[26]。分析陆地棉叶片不同衰老时期的基因表达谱,发现第 III 组的成员 GhWRKY27 是由叶片衰老诱导的,主要在早衰品种中表达,所以,推测 GhWRKY27 可能通过与其他基因的相互作用或转录调控来积极调节叶片衰老[27]。也有研究发现 I 组的成员(GhWRKY3, 83 和 97)不仅在非生物胁迫和纤维发育阶段表达,而且在叶片衰老、花药发育、根,茎、叶和胚中高表达[22]。

在非生物胁迫方面,在冷、盐、ABA、干旱和碱条件下发现陆地棉中 IID(GhWRKY81), IIC 组(GhWRKY15), III 组(GhWRKY7, 89)和 IIa 组(GhWRKY71, 84 和 73)成员在这五中不同的胁迫条件下都有响应,并且有超过对照组两倍的表达水平的变化,这表明这些常见的上调的 GhWRKY 基因可能参与信号通路之间的串扰,以调节这五种压力[22]。在拟南芥中过表达陆地棉中第 III 组成员 GhWRKY33,用不同浓度的甘露醇处理后发现,与野生型相比,转基因拟南芥的种子发芽率降低,并且根的生长明显被抑制,这表明, GhWRKY33 转基因拟南芥植物在种子萌发和幼苗早期生长过程中表现出干旱敏感性。当暴露于干旱中时, GhWRKY33 转基因拟南芥的气孔比野生型开放,失水率更高,所以推测 GhWRKY33 可能通过与干旱相关基因和 ABA 反应基因的启动子区域中的 W-box 结合而直接或间接调节干旱相关基因和 ABA 反应基因的表达,从而响应干旱胁迫和 ABA 信号传导[28]。

在抗病防御方面,分析陆地棉 IIc 亚组基因 GhWRKY11,发现 GhWRKY11 基因在通过部分防御信

号时表达上调[29]。此外, GhWRKY11-过表达植物通过 SA 依赖性信号传导途径显示出对病毒攻击的增强抗性, 随后减少了 H₂O₂ 积累[29]。因此, 研究人员推测 GhWRKY11 可能在调节植物病原体防御反应中发挥重要作用[29]。

4. 结论与展望

本文从 WRKY 转录因子的起源开始, 介绍 WRKY 转录因子的结构特征以及它们家族的分类, 然后阐述 WRKY 转录因子在棉花中的全基因组分析情况和生物学功能。WRKY 转录因子最开始在甘薯中鉴定出来, 但目前已在越来越多的植物中发现了它的身影, 在模式植物拟南芥、水稻中被广泛研究, 它在各类其他植物如胡椒、枣、苹果等中行使的某些功能也慢慢被研究人员阐明。经对 WRKY 转录因子在棉花中的研究总结发现, 研究物种具有偏向性, WRKY 转录因子在陆地棉和雷蒙德氏棉中的研究较多, 而在海岛棉、亚洲棉中的报道较少。可能是因为海岛棉的全基因组测序较晚公开, 但海岛棉因为品质优良、纤维柔长, 在我国主要用来纺织高支纱, 而国内适合纺高支纱的原棉稀缺, 原棉总量与品级无法满足纺织需求, 每年需大量进口原棉, 因此, 在这种现状下, 研究海岛棉并帮助其提高棉纤维质量就显得非常重要。另外, 大量的植物 WRKY 基因功能研究包括棉花 WRKY 基因的研究报道是从表达分析总结 WRKY 基因的功能, 严重缺乏功能的深入研究和机制研究, 因此, WRKY 转录因子基因功能的机制亟待深入研究。本文对 WRKY 转录因子的起源与结构特征的总结将对棉花 WRKY 基因功能的机制研究提供帮助, 最终促进棉花分子育种, 以获得抗病性高、棉纤维质量和产量高的棉花新品种。

参考文献

- [1] Schwechheimer, M.Z. and Bevan, M.W. (1998) Plant Transcription Factor Studies. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **49**, 127-150. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.49.1.127>
- [2] Jin, J., et al. (2014) PlantTFDB 3.0: A Portal for the Functional and Evolutionary Study of Plant Transcription Factors. *Nucleic Acids Research*, **42**, D1182-D1187. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1016>
- [3] Guo, Y., Cai, Z. and Gan, S. (2004) Transcriptome of Arabidopsis Leaf Senescence. *Plant, Cell & Environment*, **27**, 521-549. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2003.01158.x>
- [4] 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 β -Amylase from Sweet Potato. *Molecular Genetics and Genomics*, **244**, 563-571. <https://doi.org/10.1007/BF00282746>
- [5] Wu, K.L., Guo, Z., Wang, H.H. and Li, J. (2005) The WRKY Family of Transcription Factors in Ice and Arabidopsis and Their Origins. *DNA Research*, **12**, 9-26. <https://doi.org/10.1093/dnares/12.1.9>
- [6] Eulgem, T., Rushton, P.J., Schmelzer, E., et al. (1999) Early Nuclear Events in Plant Defence Signalling: Rapid Gene Activation by WRKY Transcription Factors. *Embo Journal*, **18**, 4689-4699. <https://doi.org/10.1093/emboj/18.17.4689>
- [7] Ulker, B. and Somssich, I.E. (2004) WRKY Transcription Factors: From DNA Binding towards Biological, Function. *Current Opinion in Plant Biology*, **7**, 491-498. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2004.07.012>
- [8] Hassan, S., Lethin, J., Blomberg, R., et al. (2019) In Silico Based Screening of WRKY Genes for Identifying Functional Genes Regulated by WRKY under Salt Stress. *Computational Biology and Chemistry*, **83**, Article ID: 107131. <https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2019.107131>
- [9] Wang, W., Sun, Y.Q., Li, G.L., et al. (2019) Genome-Wide Identification, Characterization, and Expression Patterns of the BZR Transcription Factor Family in Sugar Beet (*Beta vulgaris* L.). *BMC Plant Biology*, **19**, e7817. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1783-1>
- [10] Zheng, J., Liu, F., Zhu, C., et al. (2019) Identification, Expression, Alternative Splicing and Functional Analysis of Pepper WRKY Gene Family in Response to Biotic and Abiotic Stresses. *PLoS ONE*, **14**, e0219775. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219775>
- [11] Xue, C., Li, H., Liu, Z., et al. (2019) Genome-Wide Analysis of the WRKY Gene Family and Their Positive Responses to Phytoplasma Invasion in Chinese Jujube. *BMC Genomics*, **20**, 464. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5789-8>
- [12] Maeo, K., Hayashi, S., Kojima-Suzuki, H., et al. (2001) Role of Conserved Residues of the WRKY Domain in the DNA-Binding of Tobacco WRKY Family Proteins. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **65**, 2428-2436.

- <https://doi.org/10.1271/bbb.65.2428>
- [13] Xie, Z., Zhang, Z.L., Zou, X., *et al.* (2005) Annotations and Functional Analyses of the Rice WRKY Gene Superfamily Reveal Positive and Negative Regulators of Abscisic Acid Signaling in Aleuronecells. *Plant Physiology*, **137**, 176-189. <https://doi.org/10.1104/pp.104.054312>
- [14] Zhang, Y.J. and Wang, L.J. (2005) The WRKY Transcription Factor Supertamily: Its Origin in Eukaryotes and Expansion in Plants. *BMC Evolutionary Biology*, **5**, 1-12. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-5-1>
- [15] Thomas Eulgem, P.J.R., Robatzek, S. and Somssich, L.E. (2000) The WRKY Superfamily of Plant Transcription Factors. *Trends in Plant Science*, **5**, 1360-1385. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(00\)01600-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(00)01600-9)
- [16] Rushton, P.J., Macdonald, H., Hutly, A.K., Lazarus, C.M. and Hooley, R. (1995) Members of a New Family of DNA-Binding Proteins Bind to a Conserved Cis-Element in the Promoters of a-Amy2 Genes. *Plant Molecular Biology*, **29**, 691-702. <https://doi.org/10.1007/BF00041160>
- [17] Rushton, P., Somssich, I.E., Ringler, P. and Shen, Q.J. (2010) WRKY Transcription Factors. *Trends in Plant Science*, **15**, 247-258. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.02.006>
- [18] Yu, D., Chen, C. and Chen, Z. (2001) Evidence for an Important Role of WRKY DNA Binding Proteins in the Regulation of NPR1 Gene Expression. *The Plant Cell*, **13**, 1527-1540. <https://doi.org/10.1105/TPC.010115>
- [19] Turck, F., Zhou, A. and Somssich, I.E. (2004) Stimulus-Dependent, Promoter-Specific Binding of Transcription Factor WRKY1 to Its Native Promoter and the Defense-Related Gene PcPR1-1 in Parsley. *The Plant Cell*, **16**, 2573-2585. <https://doi.org/10.1105/tpc.104.024810>
- [20] Rocher, A., Dumas, C. and Cock, J.M. (2005) A W-Box Is Required for Full Expression of the SA-Responsive Gene SFR2. *Gene*, **344**, 181-192. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2004.09.016>
- [21] Gu, L., Wei, H., Wang, H., *et al.* (2018) Characterization and Functional Analysis of GhWRKY42, a Group IId WRKY Gene, in Upland Cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *BMC Genetics*, **19**, 48. <https://doi.org/10.1186/s12863-018-0653-4>
- [22] Dou, L., Zhang, X., Pang, C., *et al.* (2014) Genome-Wide Analysis of the WRKY Gene Family in Cotton. *Molecular Genetics and Genomics*, **289**, 1103-1121. <https://doi.org/10.1007/s00438-014-0872-y>
- [23] Cai, C.P., *et al.* (2014) Genome-Wide Analysis of the WRKY Transcription Factor Gene Family in *Gossypium raimondii* and the Expression of Orthologs in Cultivated Tetraploidcotton. *The Crop Journal*, **2**, 87-101. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2014.03.001>
- [24] Dai, X., Wang, Y. and Zhang, W.H. (2015) OsWRKY74, a WRKY Transcription Factor, Modulates Tolerance to Phosphate Starvation in Rice. *Journal of Experimental Botany*, **67**, 947-960. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv515>
- [25] Ding, M., Chen, J., Jiang, Y., *et al.* (2015) Genome-Wide Investigation and Transcriptome Analysis of the WRKY Gene Family in *Gossypium*. *Molecular Genetics and Genomics*, **290**, 151-171. <https://doi.org/10.1007/s00438-014-0904-7>
- [26] Gu, L., Li, L., Wei, H., *et al.* (2018) Identification of the Group IIa WRKY Subfamily and the Functional Analysis of GhWRKY17 in Upland Cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *PLoS ONE*, **13**, e0191681. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191681>
- [27] Gu, L., Dou, L., Guo, Y., *et al.* (2019) The WRKY Transcription Factor GhWRKY27 Coordinates the Senescence Regulatory Pathway in Upland Cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *BMC Plant Biology*, **19**, 116. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1688-z>
- [28] Wang, N.N., Xu, S.W., Sun, Y.L., *et al.* (2019) The Cotton WRKY Transcription Factor (GhWRKY33) Reduces Transgenic Arabidopsis Resistance to Drought Stress. *Scientific Reports*, **9**, Article No. 724. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37035-2>
- [29] Sun, J., An, H., Shi, W., *et al.* (2012) Molecular Cloning and Characterization of GhWRKY11, a Gene Implicated in Pathogen Responses from Cotton. *South African Journal of Botany*, **81**, 113-123. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2012.06.005>