

老鸦瓣芽茎发育相关 MYB 转录因子家族鉴定与分析

张军霞, 郭巧生, 朱再标*, 徐碧霞

南京农业大学 中药材研究所, 江苏 南京 210095

摘要: **目的** 鉴定老鸦瓣 *Amana edulis* MYB 转录因子家族成员并分析其表达模式, 以期发现老鸦瓣芽茎发育相关 MYB 基因。**方法** 利用老鸦瓣转录组数据经 Pfam 和 PlnTFDB 数据库鉴定含有 MYB 保守结构域的 MYB 转录因子, 通过构建系统进化树并根据拟南芥 MYB 分组信息为老鸦瓣 R2R3-MYB 基因划分亚组, 进行 2R-MYB 结构域可视化分析和 GO 富集分析, 挑选在芽茎中特异表达的 MYB 基因并用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 验证表达。**结果** 共鉴定出 93 个含有 MYB 保守结构域的 MYB 转录因子, 其中 53 个 R2R3-MYB 分为 15 个亚组, GO 注释为生物过程的子类别最多, 在芽茎中特异表达的 12 个 MYB 基因中有 11 个基因在芽茎发育前期至中期的表达量显著下降, 有 4 个基因在芽茎发育中期至后期的表达量显著上升。**结论** 获得的 53 个 R2R3-MYB 转录因子为进一步研究老鸦瓣 MYB 转录因子家族影响芽茎发育过程的分子机制奠定了基础。

关键词: 转录组; 功能注释; 进化分析; 表达分析; 实时荧光定量 PCR

中图分类号: R286.12 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2021)06-1735-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.06.023

Identification and analysis of MYB transcription factor family related to stolon development of *Amana edulis*

ZHANG Jun-xia, GUO Qiao-sheng, ZHU Zai-biao, XU Bi-xia

Institute of Chinese Medicinal Materials, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

Abstract: **Objective** The current study was carried out to identify and explore the expression pattern analysis of MYB transcription factors family in *Amana edulis*. **Methods** MYB transcription factors with conserved domain were identified by Pfam and PlnTFDB data using the transcriptome of *A. edulis*, the phylogenetic tree was constructed, and the subgroup of R2R3-MYB genes were classified according to the *Arabidopsis thaliana* grouping information with MYB. In addition, 2R-MYB domains visualization analysis and GO enrichment analysis were carried out, and the specific expression of MYB genes in stolon was selected to verify expression by qPCR. **Results** A total of 93 MYB transcription factors with conserved domain were identified, among which 53 R2R3-MYB genes were divided into 15 subgroups. And the most subcategories of the GO annotation were biological processes. The expression of 11 of the 12 MYB genes with expressed specifically in stolon was decreased significantly from early to middle development stage, and the expression of four genes was increased significantly from middle to late development stage of stolon. **Conclusion** The 53 R2R3-MYB transcription factors obtained in this study provided the foundation for further study on the molecular mechanism of MYB transcription factors family in *A. edulis* stolon development.

Key words: transcriptome; functional annotation; phylogenetic analysis; expression analysis; qRT-PCR

老鸦瓣 *Amana edulis* (Miq.) Honda 为百合科老鸦瓣属多年生药用植物。其去除膜质皮和披绒毛的干燥鳞茎为药材光慈姑, 有小毒, 有清热解毒、散结消肿之功效, 用于治疗咽喉肿痛、乳腺癌等^[1-2]。由于近年来光慈姑药用功效的不断开发, 对老鸦瓣的需求日益增长, 其野生居群受到破坏, 而在其人

工栽培过程中受老鸦瓣的繁殖系数限制, 致使规模化进展缓慢。

杨小花等^[3]研究发现从老鸦瓣鳞茎盘侧生成的芽茎是影响其繁殖系数的主要因素。本课题组前期对老鸦瓣芽茎的发生发育过程及形态学和解剖学特征, 形成的生理生化、转录组及 miRNA 差异等

收稿日期: 2020-09-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81773834)

作者简介: 张军霞, 硕士研究生, 专业方向为药用植物栽培(养殖)理论与技术。E-mail: 2017104127@njau.edu.cn

*通信作者: 朱再标, 教授, 研究方向为药用植物资源。Tel: (025)84395980 E-mail: zhuzhaibiao@njau.edu.cn

进行了探索,初步阐明了老鸦瓣芽茎发育的形态解剖特征、生理生化特征,并通过转录组和 miRNA 数据的分析注释,分析了可能与老鸦瓣芽茎形成相关的基因和 miRNA^[4-7]。并根据老鸦瓣芽茎形成过程的转录组注释信息,筛选可能与老鸦瓣芽茎形成有关的转录因子。

MYB 转录因子是植物中最大的转录因子家族之一^[8],广泛参与植物的发育和代谢调控,如细胞形态的建成和分化、植物生长信号转导、次生代谢调控、生物和非生物胁迫应答以及细胞周期调控等^[9]。笔者根据老鸦瓣转录组中芽茎形成过程的注释信息,发现芽茎发育过程涉及 723 个转录因子,其中 MYB 家族转录因子高度富集,并在芽茎发育过程中显著变化。因此推测 MYB 转录因子可能在老鸦瓣芽茎发生发育过程发挥重要调控作用。

因此本研究基于转录组数据对老鸦瓣 MYB 转录因子进行鉴定分析并预测基因功能,同时分析老鸦瓣不同部位及芽茎不同发育时期 MYB 基因表达模式,以期挖掘老鸦瓣芽茎的发育过程关键基因及探索 MYB 转录因子调控芽茎发生过程的分子机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

老鸦瓣鳞茎 2018 年 5 月采自安徽省阜南县,经郭巧生教授鉴定为老鸦瓣 *Amana edulis* (Miq.) Honda。经过多菌灵喷施阴干晾晒,沙藏后于 2018 年 10 月种植于大田园土与营养土为 2:1 的塑料盆中。根据前期研究确定采样时间^[5-6],于 2019 年 1 月底起采取芽茎发生前期(T1)、中期(T2)、后期(T3),并采取叶片、花、鳞茎样本,后迅速放入液氮,保存于-80℃冰箱。

1.2 MYB 序列筛选与鉴定

水稻 *Oryza sativa* subsp. Japonica、拟南芥 *Arabidopsis thaliana* L. MYB 转录因子的氨基酸序列来自 PlnTFDB 数据库(<http://plntfdb.bio.uni-potsdam.de/v3.0/>)^[10],亚洲百合 *Lilium asiatic* Hybrids MYB 序列来自 PRJNA523474^[11],老鸦瓣氨基酸序列来自 PRJNA662235。通过 BioEdit 软件将水稻、拟南芥的 MYB 基因氨基酸序列与老鸦瓣的氨基酸序列库进行本地 BLASTP 比对^[12],删除重复转录本,初步筛选出老鸦瓣同源 MYB 基因。于 Pfam(<http://pfam.xfam.org/>)分别下载 MYB 结构域(PF00249、PF8914、PF13921、PF12776、PF13873、

PF13837、PF15963)的 HMM 文件^[13],利用 TBtools 软件初步筛选老鸦瓣同源 MYB 氨基酸序列文件^[14],提交至 TBtools 进行 SMART SANT 结构域预测^[15-16],确定 MYB 保守结构域,剔除不含 MYB 结构域或结构域不完整的序列后,共获得 93 个老鸦瓣 MYB 基因。

1.3 系统发育树分析、motif 鉴定、多重序列比对

使用 MEME(<http://meme-suite.org/tools/meme>)和 TBtools 分析老鸦瓣 MYB 蛋白序列的保守基序,同时使用 MAFFT 对老鸦瓣、水稻、拟南芥和亚洲百合的 MYB 序列比对^[17],经 MEGAX 采用邻接法(Neighbor-Joining, NJ)构建系统发育树^[18],并参照 Stracke 等^[19]、Dubos 等^[9]和 Shelton 等^[20]拟南芥亚组的划分方法对鉴定的老鸦瓣 53 个 R2R3-MYB 基因进行分组,再经 AI 对进化树进行美化调整。通过 ClustalW 软件将老鸦瓣 R2R3-MYB 序列经比对,将 DNA 结合结构域氨基酸序列提交至 WebLogo(<http://weblogo.berkeley.edu/logo.cgi>)绘制保守结构域可视化图。利用 TBtools 将老鸦瓣 93 个 MYB 序列经 MEGAX 构建的发育树与 MEME(<http://meme-suite.org/tools/meme>)的 motif 结合,鉴定 MYB 基因的 motif。

1.4 老鸦瓣 MYB 家族基因的动态 GO 富集

通过转录组数据获得基因的 GO 注释信息,利用基迪奥云平台网页 <https://www.omicsshare.com/tools> 在线分析老鸦瓣 93 个 MYB 家族基因 GO 富集的功能注释。

1.5 老鸦瓣 MYB 家族基因的表达与验证分析

老鸦瓣 MYB 基因表达量用 FPKM 表示,老鸦瓣的花、叶、鳞茎、芽茎(T1、T2、T3 时期)等 6 组数据来自老鸦瓣转录组数据库,使用 TBtools 软件对老鸦瓣 MYB 基因进行聚类分析。基于转录组数据筛选到在芽茎部位差异表达的 MYB 基因,引物由生工生物工程(上海)股份有限公司在线设计并合成,按照 95℃、1 min, 95℃、10 s, 60℃、15 s, 40 个循环的反应程序对基因的表达进行 qRT-PCR 验证,每个样品设置 3 次生物学重复,采用 2^{-ΔΔCt} 法进行分析。

2 结果与分析

2.1 老鸦瓣 MYB 转录因子家族的鉴定

通过水稻、拟南芥 MYB 转录因子家族对老鸦瓣转录组中的氨基酸序列进行同源序列比对,将初步获得的序列去除重复转录本,再通过 MYB HMM 和

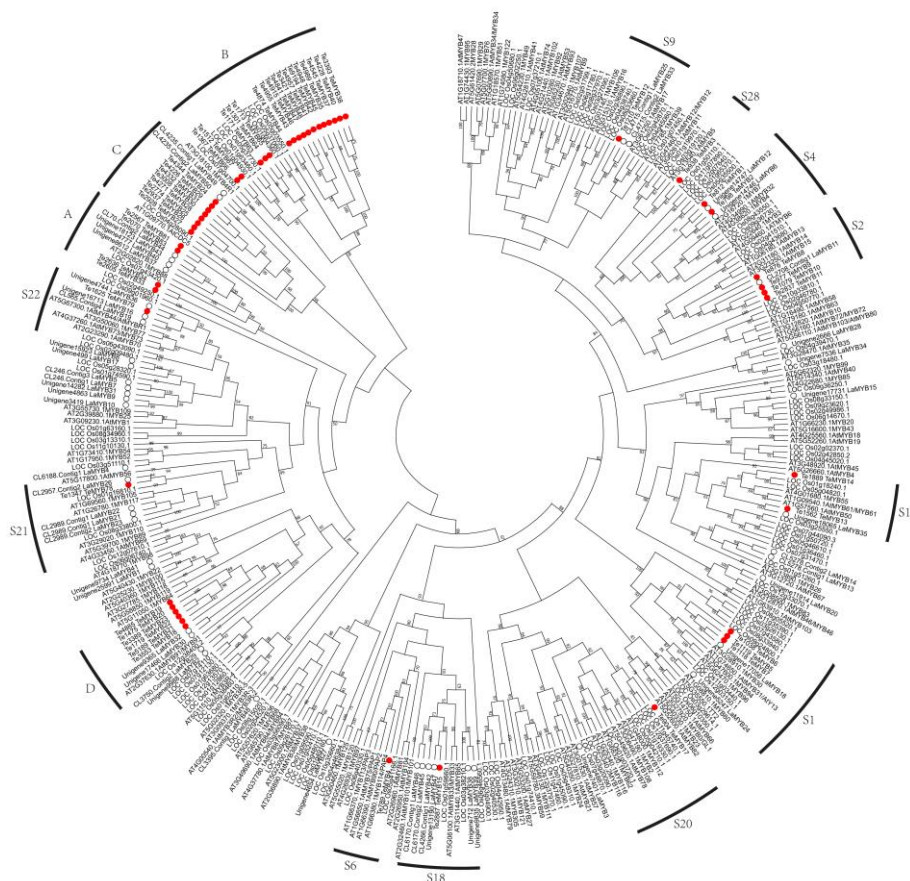
SMART 检索含有 MYB 结构域的序列,剔除不含 MYB 结构域的序列,最终获得 93 条老鸦瓣 MYB 基因作为家族分析的序列,并将其命名为 *TeMYB1*~*TeMYB93*,其中 8 个 3R-MYB(*TeMYB86*~*TeMYB93*)、9 个 4R-MYB(*TeMYB69*~*TeMYB77*)、23 个 1R-MYB 和 53 个 2R-MYB。

2.2 老鸦瓣 MYB 基因发育进化树构建和保守结构域分析

参照拟南芥亚组的划分方法,将 53 个老鸦瓣 R2R3-MYB 基因分为 15 个亚组,包括 11 个已知亚组,4 个未知亚组(暂分为 A、B、C、D 亚组)。其中 A 组与 *AtMYB88* 聚为一支, C 组与 *AtMYBCDC5* 一支, D 组与 *AtMYB91* 为一支, B 组的 17 个老鸦瓣 MYB 基因与拟南芥 MYB 基因无同

源基因,只与 6 个水稻 MYB 基因有同源基因。通过比对水稻 6 个 MYB 基因氨基酸序列,发现序列在结构上具有相似性,说明 B 组老鸦瓣 17 个 MYB 基因氨基酸序列与水稻的 6 个 MYB 基因在序列的进化上较为保守,并且可能是单子叶植物所独有(图 1)。

在 2R-MYB 中的 R2、R3 结构域中,都具有 52 个氨基酸,并且每 2 个色氨酸之间相隔 19 个氨基酸, R3 结构域的第 1 个色氨酸由苯丙氨酸、亮氨酸或异亮氨酸取代。通过将老鸦瓣 2R-MYB DNA 结合域可视化,显示老鸦瓣 MYB 的 R3 结构域第 1 个色氨酸部位由苯丙氨酸、异亮氨酸与色氨酸共同组成,同时也发现老鸦瓣 MYB 的 R3 结构域第 3 个色氨酸也存在由酪氨酸取代的情况(图 2)。



红色圆圈代表老鸦瓣 MYB 序列 白色圆圈代表亚洲百合 MYB 序列 S1~S28 为老鸦瓣序列参照拟南芥已有亚组信息划分的亚组 A~D 代表老鸦瓣序列与拟南芥、水稻基因聚类,因无亚组信息划分而暂命名的亚组

The red circle represents the MYB sequences of *A. edulis* and the white circle represents the *L. asiatic*. S1—S28 are the subgroups of *A. edulis* sequence according to the existing subgroup information of *A. thaliana*. A—D represent the subgroups of *A. edulis* sequence clustering with *A. thaliana* and *O. sativa* genes, which are temporarily named because there is no subgroup information

图 1 拟南芥、水稻、亚洲百合和老鸦瓣 MYB 基因的发育进化树

Fig. 1 Phylogenetic tree of MYB genes in *A. thaliana*, *O. sativa*, *L. asiatic* and *A. edulis*

2.3 老鸦瓣 MYB 基因家族基序分析

老鸦瓣 MYB 蛋白系统发育树与预测保守基序结合, 进一步说明序列中基序的多样性和相似性。预测出包含 15~41 个氨基酸的 10 个基序 (图 3)。motif 1、motif 3、motif 5、motif 10 4 个基序组成

了 MYB 保守结构域的主要部分, 老鸦瓣 MYB 基因最少含有其中一个 (图 4)。TeMYB86~TeMYB93 为老鸦瓣 3R-MYB 类基因, motif 1、motif 3、motif 5 为共有, 且按照 motif 5-motif 1-motif 3 的顺序排列。TeMYB69~TeMYB77 为老鸦瓣 4R-MYB 类

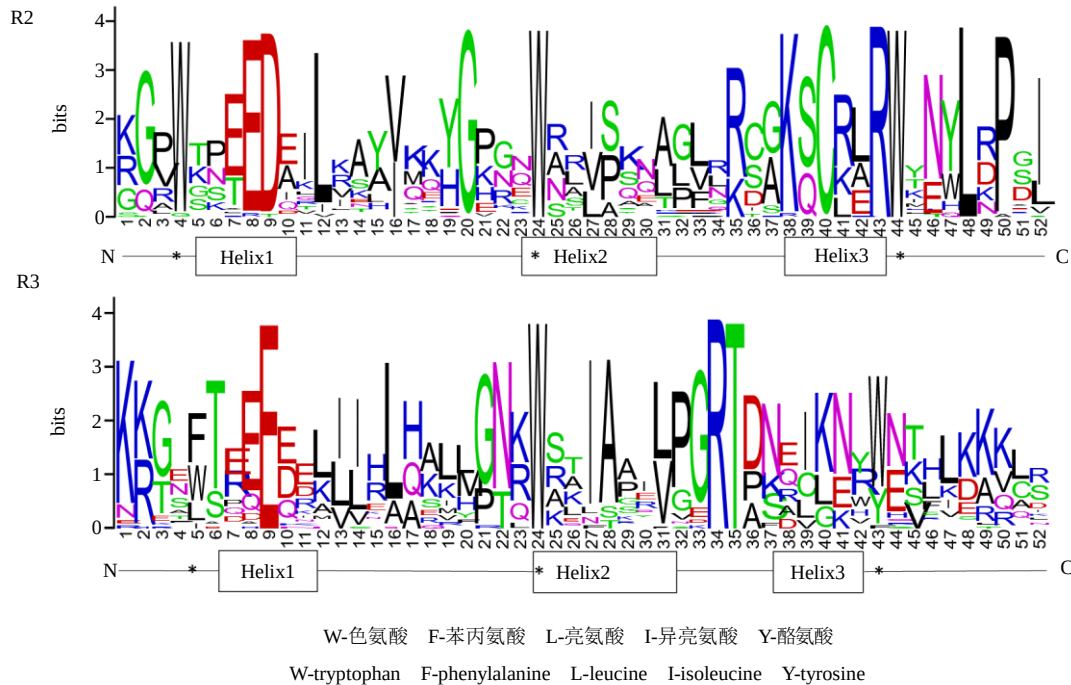


图 2 老鸦瓣 R2R3-MYB 基因的 R2、R3 结构域

Fig. 2 Sequence logos of R2 and R3 domains about R2R3-MYB gene of *A. edulis*

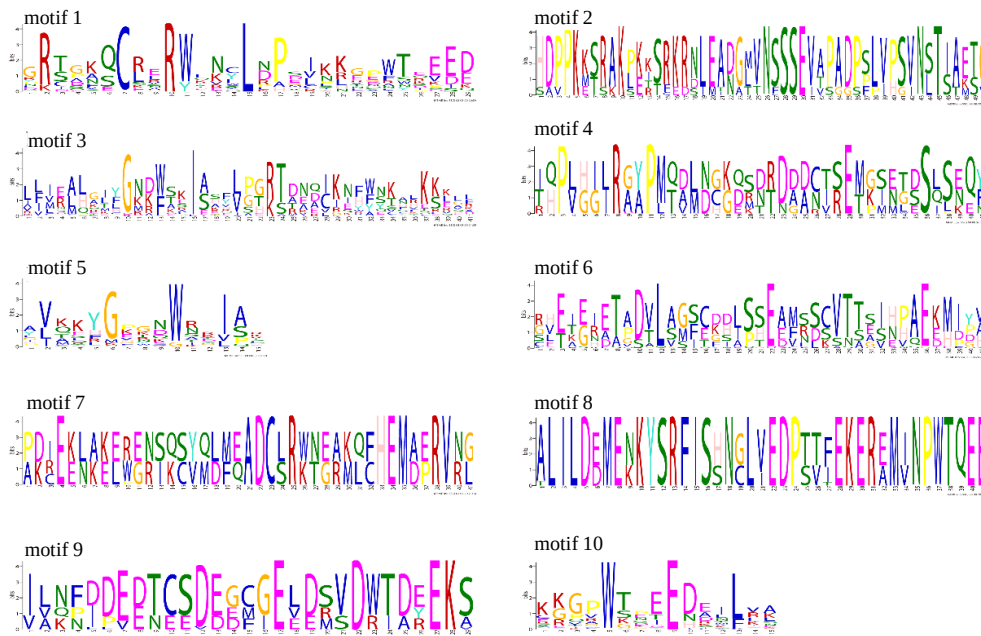


图 3 老鸦瓣 MYB 基因的 10 个基序

Fig. 3 10 motifs of MYB gene of *A. edulis*

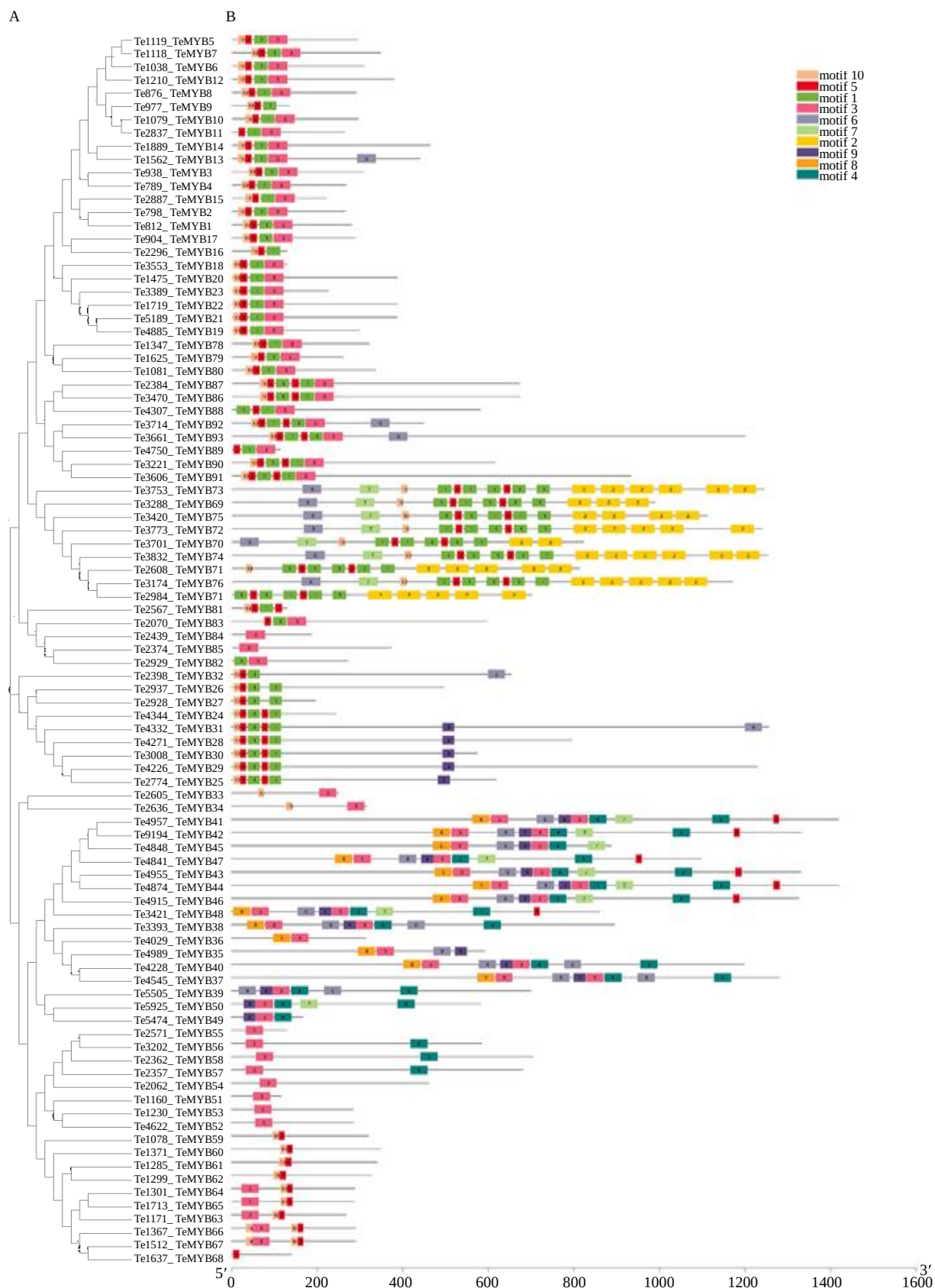


图 4 老鸦瓣 MYB 基因的发育进化树 (A) 和保守基序 (B)

Fig. 4 Phylogenetic tree (A) and conservative motifs (B) of 93 MYB genes

基因, 共同含有 motif 1、motif 2、motif 5, 并包括 2~5 个 motif 2, 5 个 motif 1。老鸦瓣 2R-MYB 基因含有 motif 1、motif 3、motif 5、motif 10, 并且按照 motif 10-motif 5-motif 1-motif 3 的顺序排列。*TeMYB35~TeMYB50* 包含基序种类较多, 且都含有 motif 3, *TeMYB51~TeMYB68* 至少含有 motif 3、motif 5、motif 10 中的 1 个。

2.4 老鸦瓣 MYB 基因 GO 注释

为了解老鸦瓣 MYB 基因功能, 将鉴定到的 MYB 基因按照生物学过程、细胞组分、分子功能 3 个类别进行分类, 发现这些基因仅集中存在于某些类别, 且多个基因涉及到 GO 注释多个子类别 (图 5)。其中分子功能中仅有“结合”一个子类别, 且基因数目最多, 达 19 个。细胞组分包括细胞、细胞部分和细胞器, 涉及到 27 个基因。基因注释为生物过程的数量有 63 个, 且在这个类别中, 基因所注释到的信息丰富, 涉及细胞过程、生物调节、代谢、生物过程调控、刺激响应、信号、发育过程等子类别, 其中注释为细胞过程的基因有 18 个。*TeMYB24*、*TeMYB26*、*TeMYB29* 涉及生物正向调节、刺激响应、信号、结合等。*TeMYB23* 涉及发育过程、多细胞生物过程及细胞组分的 3 个子类别。

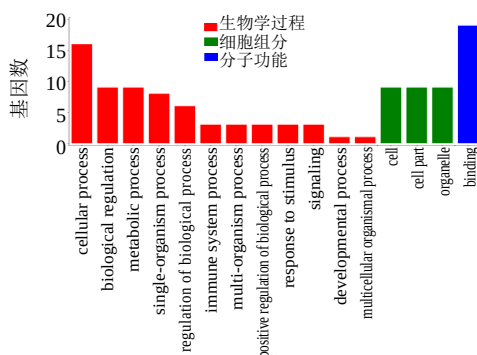


图 5 老鸦瓣 MYB 基因家族的 GO 富集注释

Fig. 5 Gene Ontology enrichment annotation of MYB genes family of *A. edulis*

2.5 老鸦瓣 93 个 MYB 基因的组织特异性表达分析

将老鸦瓣 93 个 MYB 基因的 FPKM 经均一化绘制聚类热图, 直观展现基因在老鸦瓣花、叶、鳞茎及芽茎 (T1、T2、T3) 时期等不同组织中的表达量差异 (图 6)。在花中表达较高的有 20 个基因, 其中 *TeMYB51* 和 *TeMYB16* 基因仅在花中表达; *TeMYB89*、*TeMYB26*、*TeMYB33*、*TeMYB25* 等 14 个 MYB 基因在鳞茎中表达较高。所有 MYB 基因在芽茎 T3 时期的表达量均不高; 在芽茎 T1、T2 时期有 46

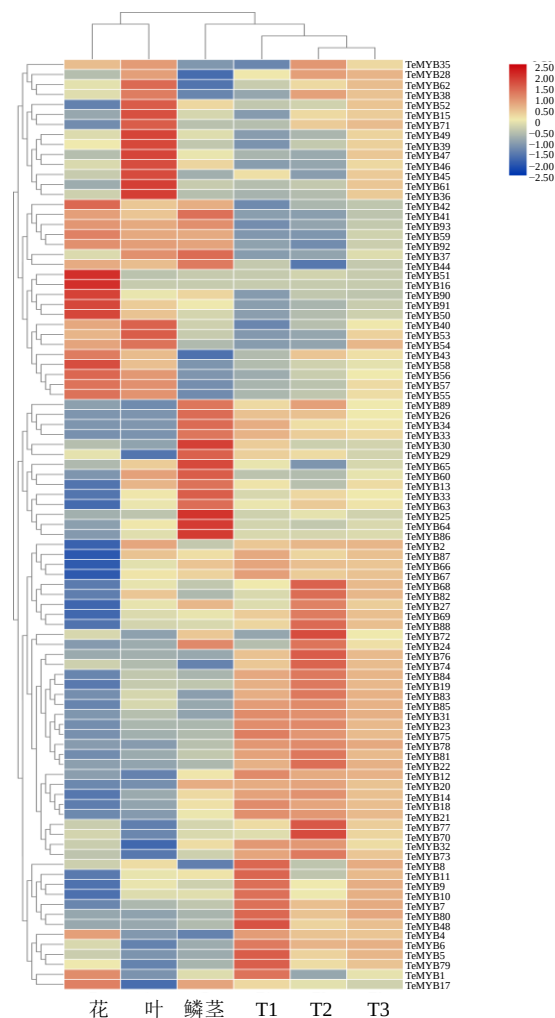


图 6 老鸦瓣 93 个 MYB 基因在不同组织的表达谱

Fig. 6 Expression profiles of 93 MYB genes in different tissues of *A. edulis*

个基因转录丰度较高, 其中 *TeMYB2*、*TeMYB66*、*TeMYB67*、*TeMYB87* 在老鸦瓣芽茎发育 3 个时期表达量相近, *TeMYB5*、*TeMYB8*、*TeMYB48*、*TeMYB79* 在 T1 时期的表达量最高。

筛选在芽茎发育过程中特异表达的 12 个 MYB 基因 (*TeMYB5*、*TeMYB6*、*TeMYB8*、*TeMYB9*、*TeMYB10*、*TeMYB34*、*TeMYB68*、*TeMYB69*、*TeMYB70*、*TeMYB77*、*TeMYB79*、*TeMYB80*) 进行验证, 通过设计引物 (表 1) 并利用 qRT-PCR 分析基因的表达模式 (图 7)。该 12 个基因在芽茎 T1 至 T2 时期的表达量有所下降, 除 *TeMYB5* 在芽茎 T1、T2 时期表达无显著差异外, 其他基因表达量差异均达到显著水平, 其中 *TeMYB34* 在芽茎 T2、T3 时期表达量较低, *TeMYB8*、*TeMYB70*、*TeMYB77*、*TeMYB79* 在芽茎 T2 至 T3 时期的表达量显著上升。

表 1 qRT-PCR 引物名称及序列

Table 1 Sequence of primers and description of qRT-PCR

引物名称	引物序列 (5'-3')
β -actin-F	TGTATGTTGCCATTGAGGCT
β -actin-R	ATCACCAGAATCCAGCACAA
TeMYB5_F	AAGACACCGCGACCATCCGT
TeMYB5_R	TGGCAGTTGGTGGTGCTGGA
TeMYB6_F	AGGCCACCGTGCTGTGACAA
TeMYB6_R	TTGCCGGGAACAAGCCTCCA
TeMYB8_F	ACAAGCCGGTCTATTGCGGTGC
TeMYB8_R	TCGCATCCTCCTCCTCCTTGCT
TeMYB9_F	ACTTCTCGAGCTCTGCCACCGA
TeMYB9_R	AGATCGTTTCGTGGCGCGGA
TeMYB10_F	AAGAGTTGTCGGCTCCGGTGGA
TeMYB10_R	TCCCGGGTAGTCTCGCTGCAAT
TeMYB34_F	AGCACCGTCTTCGAGCAGCA
TeMYB34_R	TTCCACCGCTGGTTTGCAATCC
TeMYB68_F	ACACTCCGTCCTCGCCTTCTCA
TeMYB68_R	ACGCGTCTACGCCGTAATGTGG
TeMYB69_F	ACCGGGCGTATGCTGTGTCA
TeMYB69_R	TGGACCAAAACGCAAGGCACGA
TeMYB70_F	ACCGGGCGTATGCTGTGTCA
TeMYB70_R	TGGACCAAAACGCAAGGCACGA
TeMYB77_F	ACTTGAAGCGAATGGCAGCGT
TeMYB77_R	ACTGGATTGACGCCCGCT
TeMYB79_F	ACCGCCGCTTCGGCAACAAA
TeMYB79_R	GGCGGTGTTGAAGTTCGCGT
TeMYB80_F	GCACCGACAACGCCGTCAAA
TeMYB80_R	AGGGCTGCTGCTGCCTTGTT

3 讨论

MYB 转录因子广泛参与植物的发育和代谢调控。利用转录组或基因组鉴定 MYB 转录因子家族成员, 可为进一步了解 MYB 基因在植物中的作用奠定基础。通过转录组数据鉴定并获得的 93 个老鸦瓣 MYB 转录因子中 2R-MYB 类数量最多, 占 57.0%, 其次 1R-MYB 类有 23 个, 占 24.7%, 3R-MYB 占 8.6%, 4R-MYB 占 9.7%, 经过比对发现 9 个 4R-MYB 类基因相似度较高, 可能出现可变剪接。MYB 基因 N 端为保守 DNA 结合结构域和 C 端的调制器区域, 负责调节蛋白质活性^[21]。通过对老鸦瓣 2R-MYB 类基因的保守结构域可视化分析发现在 2R-MYB 中的 R2 结构域的 3 个色氨酸之间间隔 19 个氨基酸, 与拟南芥 R2 基序-W-(X19)-W-(X19)-W-一致^[17], 而 R3 结构域中, 第 1 个氨基酸由色氨酸、苯丙氨酸、亮氨酸或异亮氨酸共同组成, 同时第 3 个色氨酸也存在由酪氨酸取代的情况。R3 结构域出现疏水氨基酸的替代, 可能是老鸦瓣 MYB 基因出现种内变化。老鸦瓣 53 个 2R-MYB

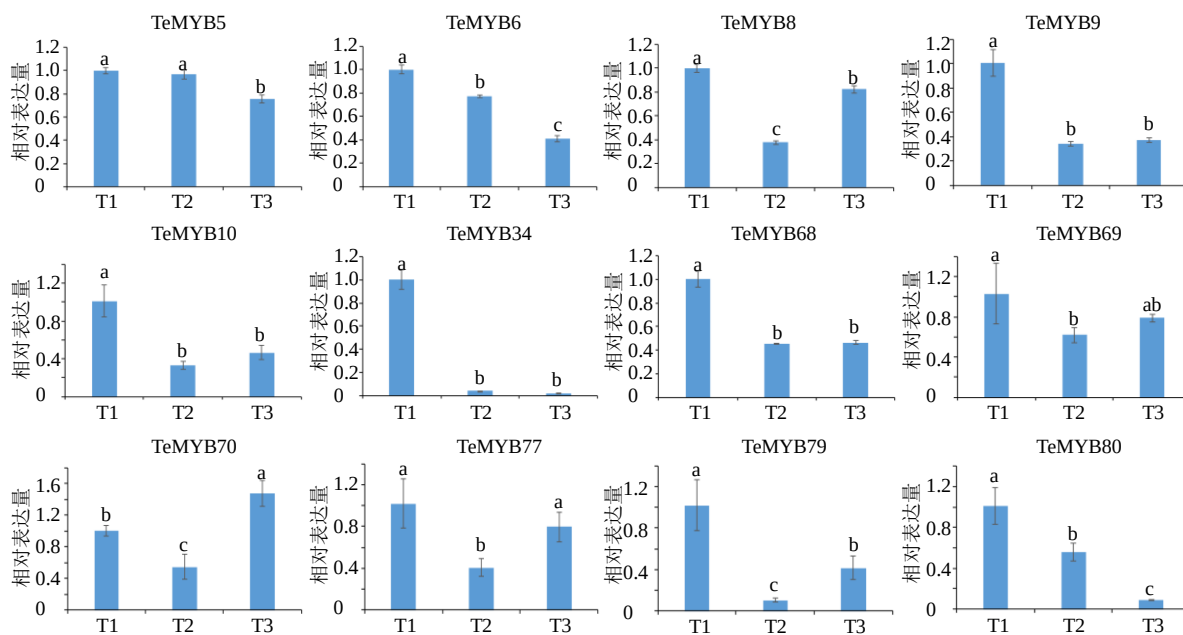


图 7 老鸦瓣 12 个 MYB 基因在芽茎不同发育时期的表达分析

Fig. 7 Expression analysis of 12 MYB genes from *A. edulis* in different development stages of stolon

类基因与拟南芥、水稻及亚洲百合的 MYB 基因构建发育进化树, 并参照拟南芥 R2R3-MYB 基因 28 个亚组^[18]划分将老鸦瓣 53 个 R2R3-MYB 家族成员基因分为 11 个已知亚组和 4 个未知亚组 (A、B、C、D 亚组)。其中 A 组 MYB 基因与 *AtMYB88* 聚为一支, C 组与 *AtMYBCDC5* 聚为一支, D 组与

AtMYB91 聚为一支, 聚为一个分支的基因其结构相近, 且可能具有类似的功能。比如桑树 *MmMYB1* (功能似 *AtMYB44*)、*MmMYB2* (功能似 *GmMYB39*) 和 *MmMYB3* 基因分别通过形成生长素和细胞分裂素及赤霉素调控等来促进不定根生成和根的生长、伸长^[22]。拟南芥 *AtMYB88*、*AtMYBCDC5* 与细胞周期

调节的细胞周期素依赖性激酶相关^[23-24], *AtMYB91* 与茎分生组织细胞的分裂分化相关^[25], 因此推测老鸦瓣 A、C、D 亚组的 MYB 成员基因可能也具有与调控细胞周期及细胞分裂相似功能。

将 12 个在老鸦瓣芽茎发育时期具有高表达量的 MYB 基因进行表达验证, 发现这 12 个基因中有 11 个在芽茎发育 T1 时期表达量较高, 在 T2 时期有所下降, 其中 *TeMYB34* 在芽茎 T2、T3 时期表达量较低, *TeMYB8*、70、77、79 4 个基因在芽茎 T2 至 T3 时期的表达显著上升。老鸦瓣 12 个 MYB 基因中, *TeMYB5*、6 分于 S1 亚组, *TeMYB8*、9、10 为 S2 亚组, *TeMYB34* 分为 C 组, 与 *AtMYBCDC5* 聚为一支, *TeMYB68* 分为 B 组, *TeMYB69*、70、77 为 4R-MYYB, *TeMYB79*、80 为 S22 亚组。而拟南芥 S1 亚组的 MYB30 为植物生长发育、代谢和激素信号传导等的关键调节因子, 并能提高植物高光耐受性^[26]。*AtMYB96* 通过正向调节 *ABI4* 的表达来调控种子萌发^[27]。S22 亚组的 MYB73/MYB77 参与调控 UV-B 下拟南芥侧根的生长发育^[28]。*AtMYB1/ATMYB44* 在响应 ABA 信号、应激反应和叶片衰老中具有多重作用^[29]。Miao 等^[6]研究发现 IAA、ABA 含量在老鸦瓣芽茎 T1 至 T2 时期较高, 随后在 T3 时期下降, ABA/IAA 的比值与之相反, 在芽茎 T1 至 T2 时期较低, 随后在 T3 时期升高, 而 *TeMYB80* 在芽茎不同发育时期的表达量变化与 IAA 含量在芽茎中的变化趋势相似, 且 S22 亚组中的 MYB 成员基因通过调控 IAA 而参与植物生长发育过程。后续可通过深入研究与 ABA、IAA 相关的老鸦瓣 S1、S22 亚组 MYB 基因来进一步探讨老鸦瓣的芽茎发生机制。

综上所述, 本研究基于老鸦瓣转录组数据通过构建系统发育树, 并参照拟南芥分组可将老鸦瓣 53 个 R2R3-MYB 划分为 15 个亚组, 在芽茎部位特异表达的 12 个 MYB 基因中有 11 个在芽茎发育前期至中期的表达量显著下降, 其中 *TeMYB8*、*TeMYB70*、*TeMYB77*、*TeMYB79* 在芽茎发育中期至后期的表达量显著上升, 这些基因可能在老鸦瓣芽茎发育过程中起重要作用。通过对老鸦瓣 MYB 基因的鉴定与比对, 推测 MYB 基因可能涉及到老鸦瓣芽茎发育过程中初生、次生代谢, 信号传导, 激素、非生物胁迫响应、调控细胞周期等过程。后续将通过对相关基因的克隆、定位及功能分析进一步探索 MYB 基因在老鸦瓣芽茎发育过程的作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 263.
- [2] 陈彪, 焦淑萍, 尹荣, 等. 6 种吉林抗癌中药清除羟自由基及其抗 DNA 损伤体外实验研究 [J]. 第三军医大学学报, 2004, 26(1): 88-89.
- [3] 杨小花, 缪媛媛, 郭巧生, 等. 不同等级老鸦瓣生长繁殖特征研究 [J]. 中草药, 2015, 46(24): 3746-3750.
- [4] 缪媛媛. 老鸦瓣芽茎发育特征及形成机制研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2015.
- [5] Miao Y Y, Zhu Z B, Guo Q S, et al. Transcriptome analysis of differentially expressed genes provides insight into stolon formation in *Tulipa edulis* [J]. *Front Plant Sci*, 2016, 7: 409.
- [6] Miao Y Y, Zhu Z B, Guo Q S, et al. Dynamic changes in carbohydrate metabolism and endogenous hormones during *Tulipa edulis* stolon development into a new bulb [J]. *J Plant Biol*, 2016, 59(2): 121-132.
- [7] Zhu Z B, Miao Y Y, Guo Q S, et al. Identification of miRNAs involved in stolon formation in *Tulipa edulis* by high-throughput sequencing [J]. *Front Plant Sci*, 2016, 7: 852.
- [8] 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.
- [9] Dubos C, Stracke R, Grotewold E, et al. MYB transcription factors in *Arabidopsis* [J]. *Trends Plant Sci*, 2010, 15(10): 573-581.
- [10] Pérez-Rodríguez P, Riaño-Pachón D M, Corrêa L G, et al. PlnTFDB: Updated content and new features of the plant transcription factor database [J]. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(Database issue): D822-D827.
- [11] 王雪倩, 袁国振, 吴泽, 等. 亚洲百合 MYB 转录因子家族的鉴定及调控花粉败育 MYB 基因的筛选 [J]. 农业生物技术学报, 2019, 27(11): 1951-1961.
- [12] Altschul S F, Madden T L, Schäffer A A, et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs [J]. *Nucleic Acids Res*, 1997, 25(17): 3389-3402.
- [13] El-Gebali S, Mistry J, Bateman A, et al. The Pfam protein families database in 2019 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(D1): D427-D432.
- [14] Chen C, 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.

- [15] Aasland R, Stewart A F, Gibson T. The SANT domain: A putative DNA-binding domain in the SWI-SNF and ADA complexes, the transcriptional co-repressor N-CoR and TFIIIB [J]. *Trends Biochem Sci*, 1996, 21(3): 87-88.
- [16] Letunic I, Bork P. 20 years of the SMART protein domain annotation resource [J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(D1): D493-D496.
- [17] Katoh K, Standley D M. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability [J]. *Mol Biol Evol*, 2013, 30(4): 772-780.
- [18] Kumar S, Stecher G, Li M, *et al.* MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms [J]. *Mol Biol Evol*, 2018, 35(6): 1547-1549.
- [19] Stracke R, Werber M, Weisshaar B. The R2R3-MYB gene family in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2001, 4(5): 447-456.
- [20] Shelton D, Stranne M, Mikkelsen L, *et al.* Transcription factors of Lotus: Regulation of isoflavonoid biosynthesis requires coordinated changes in transcription factor activity [J]. *Plant Physiol*, 2012, 159(2): 531-547.
- [21] Jin H, Martin C. Multifunctionality and diversity within the plant MYB-gene family [J]. *Plant Mol Biol*, 1999, 41(5): 577-585.
- [22] Du X L, Cao X, Yin C R, *et al.* Comprehensive analysis of R2R3-MYB genes during adventitious root formation in cuttings of *Morus alba* [J]. *J Plant Growth Regul*, 2017, 36(2): 290-299.
- [23] Berckmans B, De Veylder L. Transcriptional control of the cell cycle [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2009, 12(5): 599-605.
- [24] Xie Z D, Lee E, Lucas J R, *et al.* Regulation of cell proliferation in the stomatal lineage by the *Arabidopsis* MYB FOUR *LIPS* via direct targeting of core cell cycle genes [J]. *Plant Cell*, 2010, 22(7): 2306-2321.
- [25] Byrne M E, Barley R, Curtis M, *et al.* Asymmetric leaves1 mediates leaf patterning and stem cell function in *Arabidopsis* [J]. *Nature*, 2000, 408(6815): 967-971.
- [26] Fichman Y, Zandalinas S I, Sengupta S, *et al.* MYB30 orchestrates systemic reactive oxygen signaling and plant acclimation [J]. *Plant Physiol*, 2020, 184(2): 666-675.
- [27] Lee K, Lee H G, Yoon S, *et al.* The *Arabidopsis* MYB96 transcription factor is a positive regulator of ABSCISIC ACID-INSENSITIVE4 in the control of seed germination [J]. *Plant Physiol*, 2015, 168(2): 677-689.
- [28] Yang Y, Zhang L B, Chen P, *et al.* UV-B photoreceptor UVR8 interacts with MYB73/MYB77 to regulate auxin responses and lateral root development [J]. *EMBO J*, 2020, 39(2): e101928.
- [29] Jaradat M R, Feurtado J A, Huang D Q, *et al.* Multiple roles of the transcription factor AtMYB1/AtMYB44 in ABA signaling, stress responses, and leaf senescence [J]. *BMC Plant Biol*, 2013, 13: 192.

[责任编辑 时圣明]