

藏药多刺绿绒蒿 MYB 转录因子家族的鉴定与分析

郭佳妮¹, 向妮艳¹, 张文才¹, 陈忠海¹, 刘 星^{1,3*}, 丁亚丽^{2*}

1. 西藏大学理学院 青藏高原生态与环境研究中心极端环境生物适应与进化实验室, 西藏 拉萨 850000

2. 西藏大学医学院, 西藏 拉萨 850000

3. 武汉大学生命科学院, 湖北 武汉 430072

摘要:目的 对多刺绿绒蒿 *Meconopsis horridula* MYB 转录因子家族的鉴定分析, 为多刺绿绒蒿 MYB 转录因子的生物学功能研究提供理论依据。**方法** 基于转录组测序数据, 利用生物信息学方法对多刺绿绒蒿 MYB 转录因子家族成员进行鉴定, 并对其理化性质、二级结构、系统进化、保守基序和表达模式进行分析。**结果** 多刺绿绒蒿中共鉴定到 106 个 MYB 转录因子, 包括 49 个 1R-MYB、52 个 R2R3-MYB、5 个 3R-MYB 转录因子。多刺绿绒蒿 MYB 转录因子氨基酸数目为 72~976, 蛋白相对分子质量为 8750~110 680, 等电点为 4.720~10.452, 不稳定系数为 28.348~71.011。MYB 转录因子均为亲水性蛋白质, 亚细胞定位预测主要在细胞核中, 蛋白二级结构以 α -螺旋和无规则卷曲为主。系统发育分析显示多刺绿绒蒿 R2R3-MYB 分为 24 个亚组, 其中有 18 个亚组能分别与拟南芥各亚组聚类。106 个 MYB 转录因子中, 28 个转录因子的表达量随海拔升高而升高, 11 个转录因子表达量随海拔升高而降低。**结论** 首次对多刺绿绒蒿 MYB 转录因子家族进行了鉴定分析, 为深入研究 MYB 转录因子在多刺绿绒蒿生长发育中的作用和应对高原极端环境的调控机制提供了基础数据和理论依据。

关键词: 多刺绿绒蒿; MYB 转录因子; 生物信息学分析; 基因表达; α -螺旋

中图分类号: R282.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2023)05-1561-13

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.05.023

Identification and analysis of MYB transcription factor family in Tibetan medicine *Meconopsis horridula*

GUO Jia-ni¹, XIANG Ni-yan¹, ZHANG Wen-cai¹, CHEN Zhong-hai¹, LIU Xing^{1,3}, DING Ya-li²

1. Laboratory of Extreme Environment Biological Resources and Adaptive Evolution, Research Center for Ecology, College of Science, Tibet University, Lhasa 850000, China

2. College of Medicine, Tibet University, Lhasa 850000, China

3. College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China

Abstract: Objective To identify and analyze MYB transcription factor family of *Meconopsis horridula*, so as to provide a theoretical basis for biological function research. **Methods** Based on RNA sequencing data, the MYB transcription factor family of *M. horridula* was identified and classified by bioinformatics methods. The physicochemical properties, secondary structure, phylogeny, conserved motifs and expression patterns of MYB transcription factors were analyzed. **Results** A total of 106 MYB transcription factor family members from *M. horridula* RNA sequencing data were identified, including 49 1R-MYB, 52 R2R3-MYB, and five 3R-MYB. The amino acid number, molecular weight, isoelectric point and instability coefficient of MYB transcription factor of *M. horridula* ranged from 72 to 976, 8 750 to 110 680 4.720 to 10.452, 28.348 to 71.011. The 106 MYB transcription factors were hydrophilic proteins, and the prediction of subcellular location was mainly in the nucleus. The secondary structure of the protein was mainly α -helix and random coil. Phylogenetic analysis showed that R2R3-MYB of *M. horridula* was divided into 24 subgroups, of which 18 subgroups were clustered with each subgroup of *Arabidopsis thaliana*. Among the 106 MYB transcription factors, the expression levels of 28 transcription factors were increased with elevation, and 11 transcription factors were

收稿日期: 2022-08-14

基金项目: 西藏自治区科技厅中央引导地方项目 (XZ202001YD0028C, XZ202102YD0031C); 西藏大学研究生“高水平人才培养计划”(2020-GSP-S051)

作者简介: 郭佳妮 (1996—), 女, 硕士研究生, 研究方向为青藏高原地区藏药植物生物多样性和分子进化。E-mail: guojiani0805@163.com

*通信作者: 丁亚丽, 实验师, 主要从事药用植物研究。E-mail: yali225@163.com

刘 星, 教授, 博士, 主要从事极端环境条件下物种适应性进化机制研究, E-mail: xingliu@whu.edu.cn

decreased with elevation. **Conclusion** In this study, the MYB transcription factor family of *M. horridula* was identified and analyzed based on RNA sequencing data, which provided a basic data for growing development and regulatory mechanisms to cope with the extreme environment in the plateau of MYB transcription factors family in *M. horridula*.

Key words: *Meconopsis horridula* Hook. f. et Thoms.; MYB transcription factor; bioinformatics analysis; gene expression; α -helix

转录因子是一类重要的基因表达调控因子，通常具有 DNA 结合结构域、反转录激活结构域、核定位信号和寡聚位点，能够调控特定基因的转录与表达。在转录因子家族中，MYB 转录因子数量众多、功能多样，是植物中最重要的转录因子家族之一^[1]，MYB 转录因子家族具有高度保守的 DNA 结合结构域，该保守结构域由 1~4 个串联且不完全重复的 R 基序组成，每一个 R 基序编码 50~53 个氨基酸残基，经过折叠形成 HTH 的螺旋-转角-螺旋结构^[2]。MYB 转录因子依据其 N 端含有的特有保守基序的数量划分为 1R-MYB (MYB-related)、2R-MYB (R2R3-MYB)、3R-MYB (R1R2R3-MYB) 和 4R-MYB 4 个亚家族^[3]，其中 2R-MYB 是植物中最常见和目前功能研究最多的亚家族^[4-5]。MYB 转录因子作为调控生长发育、次级代谢物和胁迫响应的关键调控因子^[6]，在植物应对高盐、干旱、极端温度和营养缺乏等非生物胁迫方面具有重要意义^[7-8]。目前，MYB 转录因子在植物中得到了广泛研究，Cao 等^[9]过表达苹果 MdoMYB121 基因显著增强了转基因番茄和苹果植株对高盐、干旱和低温胁迫的耐受性；Cao 等^[10]通过外源过表达杨梅 MrMYB12 基因增加了烟草中黄酮醇的积累，从而减少了花青素的合成，产生淡粉色和纯白色的花；Zhang 等^[11]发现在胁迫环境下，拟南芥 AtMYB49 基因可以调节叶片角质层的沉积，从而调控植株的耐盐性；Vannini 等^[12]将水稻 OsMYB4 基因在拟南芥中过表达显著的提高了转基因植株的耐寒性和抗冻性；Feng 等^[13]发现拟南芥 AtMYB68 基因在根中柱鞘细胞中的特异表达能参与调节木质素的生成，影响植株根系发育。

多刺绿绒蒿 *Meconopsis horridula* Hook. f. et Thoms. 为罂粟科绿绒蒿属一年生草本植物，叶全部基生，叶片披针形，花芽近球形，主根肥厚而延长，生长于海拔 3600~5100 m 以上的草甸、高山和流石滩地带，在中国主要分布于西藏、甘肃西部、青海东部至南部和四川西部等高原地区。多刺绿绒蒿作为传统藏药，具有清热止痛、活血化瘀等功效，被藏医广泛用于治疗头伤、骨折和跌

打损伤等疾病^[14]。现代药理学研究表明，多刺绿绒蒿在抗病毒、抗肿瘤及心肌保护方面也有重要疗效^[15-16]。李长山等^[17]对多刺绿绒蒿乙醇提取物进行抗病毒活性测试，结果显示其提取物可以抑制甲型流感病毒。郭志琴^[18]发现多刺绿绒蒿乙醇提取物对心肌缺血导致的血脂紊乱和心功能下降具有一定改善作用。多刺绿绒蒿具有丰富的次级代谢产物，目前从多刺绿绒蒿中分离得到黄酮类、萜类、生物碱类等化合物，其中黄酮类物质作为重要的药效物质，其含量与生长环境密切相关^[19-22]，在高原环境下黄酮类物质的积累，有助于植物抵御强辐射所造成的氧化损伤^[23-24]。近年来多刺绿绒蒿的研究大多集中在化学成分鉴定及临床医药方面，对其如何应对高原极端环境的适应性进化及次级代谢物的调控机制却鲜有报道^[25]。

本研究基于转录组数据鉴定了多刺绿绒蒿 MYB 转录因子家族成员，对其理化性质、二级结构、保守基序、系统进化关系和表达模式进行分析，并预测了部分多刺绿绒蒿 MYB 转录因子的功能，筛选出可能参与黄酮类代谢及非生物胁迫等方面的 MYB 转录因子，为进一步揭示和深入研究 MYB 转录因子在多刺绿绒蒿的生长发育、次生代谢及胁迫响应机制等方面提供理论依据和基础数据，为藏药多刺绿绒蒿的可持续开发利用、生物多样性保护及环境适应性机制的研究提供科学依据和数据支撑。

1 材料

多刺绿绒蒿实验材料采集于西藏自治区拉萨市达琼村 (89°19'57"E, 30°42'97"N, 4925 m)、东德措 (92°94'52"E, 30°99'18"N, 4872 m) 和夺底沟 (91°11'16"E, 29°43'33"N, 3980 m) 3 个不同海拔地点，每个地点 3 个生物学重复，共采集 9 份叶片组织样品，液氮速冻后，存放于超低温冰箱 (-80 °C)；进行转录组测序，共获得 60.15 Gb 转录组数据。样品由武汉大学生命科学学院刘星教授鉴定多刺绿绒蒿 *M. horridula* Hook. f. et Thoms. 植株，标本现保存于西藏大学青藏高原生态与环境研究中心极端环境生物适应与进化实验室。

2 方法

2.1 多刺绿绒蒿 MYB 家族鉴定及理化性质分析

在 Pfam (<http://pfam.xfam.org>) 网站中下载 MYB 转录因子的隐马尔可夫模型 (PF00249), 利用 HMMER3.0 软件中 hmmsearch 程序进行鉴定; 下载拟南芥已发表 MYB 转录因子家族成员作为种子文件, 利用 Blast 软件进行 blastp 比对; 将 hmmsearch 与 blastp 2 种鉴定结果进行合并取交集作为候选基因提交至 SMART (<https://smart.embl.de/>)、NCBI-CDD (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)、Pfam.search (<http://pfam.xfam.org/>) 和 PROSITE (<https://prosite.expasy.org/>) 数据库进行保守结构域的验证。

通过 ExPASy (<https://web.expasy.org/>) 网站对 MYB 转录因子的基本理化性质进行预测; 利用 CELLO[CELLO: Subcellular Localization Predictive System]网站 (nctu.edu.tw) 进行亚细胞定位分析; 利用 SOPMA[NPS@:SOPMA secondary structure prediction]网站 (ibcp.fr) 对蛋白质进行二级结构预测。

2.2 多刺绿绒蒿 MYB 转录因子基因本体 (gene ontology, GO) GO 功能注释

利用 Blast2GO (Basic 6.0 <https://www.blast2go.com/>) 软件对多刺绿绒蒿 MYB 转录因子进行功能预测, 利用软件的 Blast 工具将多刺绿绒蒿 MYB 转录因子蛋白序列与非冗余 (nr) 蛋白数据库进行比对, 并对每个 MYB 转录因子进行 GO 注释, 使用 R 软件 (version 4.2.1) 绘制 GO 注释分类图。

2.3 多刺绿绒蒿 MYB 转录因子保守基序分析

利用 MEME (MEME, V.5.4.1, <http://meme-suite.org/tools/meme>) 在线分析网站, 对多刺绿绒蒿 MYB 转录因子家族成员进行保守基序的鉴定, 并使用 TBtools 软件 (version 1.09876) 对保守基序分析结果进行可视化。

2.4 多刺绿绒蒿 MYB 转录因子系统发育分析

利用 MEGA 软件 (version 11) 内置的 Clustal W 程序, 将多刺绿绒蒿 106 个 MYB 转录因子和拟南芥 195 个 MYB 转录因子蛋白序列以及 52 个 R2R3-MYB 和拟南芥 126 个 R2R3-MYB 转录因子蛋白质序列分别进行序列比对, 选用邻接 (neighbor-joining, NJ) 法构建系统发育树, Bootstrap method 参数取值 1000, 其余参数选择默认值, 并使用 iTOL 网站 (<https://itol.embl.de/>) 进行进化树美化。

2.5 多刺绿绒蒿 R2R3-MYB 蛋白特征结构域分析

利用 DNAMAN (version 9.0) 软件对多刺绿绒

蒿 R2R3-MYB 转录因子蛋白序列进行多序列比对, 提取其 R2 和 R3 保守结构域中相应的氨基酸残基分布, 利用 WebLogo 3 网站 (<http://weblogo.Threeplusone.com/>) 绘制特征结构域的序列标识。

3 结果与分析

3.1 多刺绿绒蒿 MYB 转录因子鉴定与理化性质分析

通过 Hmsearch 和 blastp 比对在多刺绿绒蒿中共得到 187 个 MYB 转录因子, 利用 SMART、PROSITE、NCBI-CDD 和 Pfam 数据库筛选, 去掉保守结构域不完整的和重复的序列, 最终鉴定到 106 个 MYB 转录因子, 其中 1RMYB 类 49 个、R2R3-MYB 类 52 个、3R-MYB 类 5 个, 命名为 MhMYB1~106 (表 1)。

对 106 个多刺绿绒蒿 MYB 转录因子进行蛋白长度、相对分子质量、等电点和酸碱性等基本性质预测 (表 1), 结果显示其蛋白序列长度为 77 (MhMYB101)~976 (MhMYB50) 个氨基酸残基; 蛋白相对分子质量为 8750 (MhMYB101)~110 680 (MhMYB50); 等电点为 4.720 (MhMYB78)~10.452 (MhMYB101), 其中 53 个转录因子蛋白等电点小于 7, 偏酸性, 其中 53 个转录因子等电点大于 7, 偏碱性; 蛋白疏水性为 -1.12 (MhMYB37)~-0.31 (MhMYB17), 表明多刺绿绒蒿 MYB 转录因子均为亲水性蛋白质; 不稳定系数为 28.348 (MhMYB29)~71.011 (MhMYB9), 其中 MhMYB77、MhMYB47、MhMYB44、MhMYB25、MhMYB30、MhMYB94 和 MhMYB29 的不稳定系数系小于 40 为稳定蛋白, 其余蛋白序列不稳定系数均大于 40, 表明多刺绿绒蒿 MYB 转录因子以不稳定蛋白为主。亚细胞定位预测结果显示 106 个 MYB 转录因子有 97 个预测到细胞核 (nuclear) 中, 8 个预测到线粒体 (mitochondrial) 中, 1 个预测到细胞质 (cytoplasmic) 中, 表明 MYB 转录因子蛋白主要在细胞核中发挥作用。

为明确多刺绿绒蒿 MYB 转录因子的蛋白质结构组成, 对 MhMYBs 蛋白序列进行了二级结构预测 (表 1), 结果显示多刺绿绒蒿 MYB 转录因子家族二级结构主要由 4 种类型组成, 其中无规则卷曲 (random coil) 占比为 29.07%~73.45%; α -螺旋结构 (alpha helix) 占比为 11.43%~60.47%; β -转角 (beta turn) 占比为 1.02%~14.61%; 延伸链 (extend strand) 占比为 0~20.45%。

3.2 多刺绿绒蒿 MYB 转录因子 GO 功能注释

多刺绿绒蒿 MYB 转录因子 GO 功能预测结果显

表 1 多刺绿绒蒿 MYB 蛋白基本信息及理化性质预测

Table 1 Basic information and physicochemical properties prediction of MYB protein of *M. horridula*

编号	分类	亚细胞定位	氨基酸/个	相对分子质量	不稳定系数	亲疏水性	等电点	α -螺旋/%	延伸链/%	β -转角/%	无规则卷曲/%
MhMYB1	1R-MYB	细胞核	821	89 480	52.76	-0.77	5.65	23.39	7.55	2.44	66.63
MhMYB2	1R-MYB	细胞核	729	80 860	48.82	-0.70	9.28	35.80	15.09	6.31	42.80
MhMYB3	1R-MYB	细胞核	714	78 130	43.92	-0.54	5.83	20.59	11.62	4.76	63.03
MhMYB4	1R-MYB	细胞核	675	73 610	51.57	-0.44	5.41	20.15	14.96	6.22	58.67
MhMYB5	1R-MYB	细胞核	661	72 470	47.05	-0.48	6.01	24.66	11.50	6.51	57.34
MhMYB6	1R-MYB	细胞核	621	68 270	44.33	-0.57	8.68	27.54	9.18	3.06	60.23
MhMYB7	1R-MYB	细胞核	578	65 310	54.47	-0.64	6.10	28.55	8.48	3.29	59.69
MhMYB8	1R-MYB	细胞核	519	57 540	59.81	-0.80	5.77	31.60	6.17	1.35	60.89
MhMYB9	1R-MYB	细胞核	501	54 870	71.01	-0.76	6.65	16.17	9.18	1.20	73.45
MhMYB10	1R-MYB	细胞核	496	54 340	57.34	-0.73	6.11	23.99	6.05	2.02	67.94
MhMYB11	1R-MYB	细胞核	491	55 320	46.45	-0.48	7.21	51.93	3.46	1.02	43.58
MhMYB12	1R-MYB	细胞核	481	52 840	59.41	-0.78	5.30	22.87	4.78	1.25	71.10
MhMYB13	1R-MYB	细胞核	404	45 130	43.51	-0.68	6.07	31.93	10.89	2.23	54.95
MhMYB14	1R-MYB	细胞核	404	44 900	59.24	-0.94	7.67	27.48	7.92	3.22	61.39
MhMYB15	1R-MYB	细胞核	401	44 650	46.67	-0.65	6.68	31.67	9.98	2.74	55.61
MhMYB16	1R-MYB	细胞核	396	44 620	66.13	-0.68	5.97	28.54	6.06	1.52	63.89
MhMYB17	1R-MYB	细胞核	391	41 580	57.00	-0.31	8.52	38.62	5.63	2.30	53.45
MhMYB18	1R-MYB	细胞核	355	38 690	60.70	-0.60	6.67	16.06	10.70	1.69	71.55
MhMYB19	1R-MYB	细胞核	354	38 520	41.18	-0.54	8.57	20.06	11.58	4.24	64.12
MhMYB20	1R-MYB	细胞核	352	38 570	63.51	-0.66	8.60	19.32	9.94	3.69	67.05
MhMYB21	1R-MYB	细胞核	343	38 020	51.55	-0.90	9.09	14.58	17.78	4.66	62.97
MhMYB22	1R-MYB	细胞核	341	37 220	53.00	-0.52	6.68	19.94	13.49	3.81	62.76
MhMYB23	1R-MYB	细胞核	337	36 990	42.35	-0.68	10.01	15.13	12.76	5.04	67.06
MhMYB24	1R-MYB	细胞核	328	37 230	49.80	-1.05	9.14	20.12	14.63	2.44	62.80
MhMYB25	1R-MYB	细胞核	320	35 150	36.64	-0.61	6.94	46.56	7.81	2.50	43.12
MhMYB26	1R-MYB	细胞核	319	34 500	70.68	-0.60	6.45	27.90	5.02	5.02	62.07
MhMYB27	1R-MYB	细胞核	305	32 710	43.31	-0.64	6.13	19.67	11.15	3.61	65.57
MhMYB28	1R-MYB	细胞核	304	33 170	53.79	-0.50	9.61	15.46	14.80	4.28	65.46
MhMYB29	1R-MYB	细胞核	289	32 760	28.35	-0.82	7.21	48.44	10.38	4.15	37.02
MhMYB30	1R-MYB	细胞核	287	31 470	36.10	-0.53	5.48	23.34	13.94	6.62	56.10
MhMYB31	1R-MYB	细胞核	283	31 810	53.75	-0.73	7.85	36.75	5.65	1.06	56.54
MhMYB32	1R-MYB	细胞核	278	31 390	49.77	-0.85	8.81	24.82	10.43	4.32	60.43
MhMYB33	1R-MYB	细胞核	277	30 650	63.80	-0.61	10.05	16.61	16.61	2.89	63.90
MhMYB34	1R-MYB	细胞核	277	30 830	52.81	-0.78	9.36	46.57	6.86	3.61	42.96
MhMYB35	1R-MYB	细胞核	264	28 820	59.85	-0.83	8.49	32.20	5.30	2.65	59.85
MhMYB36	1R-MYB	细胞核	231	25 790	49.23	-0.86	8.57	29.87	10.82	2.60	56.71
MhMYB37	1R-MYB	细胞核	228	26 590	65.63	-1.12	6.76	26.75	10.09	4.39	58.77
MhMYB38	1R-MYB	细胞核	228	25 590	69.00	-1.10	9.51	24.12	9.21	3.07	63.60
MhMYB39	1R-MYB	细胞核	193	21 950	54.07	-0.93	9.34	29.53	8.29	2.07	60.10
MhMYB40	1R-MYB	细胞核	178	19 960	42.18	-0.83	5.69	28.09	12.36	9.55	50.00
MhMYB41	1R-MYB	细胞核	175	19 660	67.94	-1.04	9.52	11.43	12.00	5.14	71.43
MhMYB42	1R-MYB	细胞核	170	18 780	47.94	-0.61	10.22	16.47	18.82	4.71	60.00
MhMYB43	1R-MYB	细胞核	155	17 630	52.83	-0.87	9.49	34.84	9.03	5.81	50.32
MhMYB44	1R-MYB	线粒体	144	17 380	37.05	-0.52	10.34	40.28	13.89	5.56	40.28
MhMYB45	1R-MYB	细胞核	135	15 390	46.02	-0.60	8.03	42.22	11.85	6.67	39.26
MhMYB46	1R-MYB	细胞核	121	14 040	47.16	-0.73	6.36	49.59	8.26	9.09	33.06
MhMYB47	1R-MYB	细胞核	118	13 380	37.24	-0.93	6.52	30.51	9.32	6.78	53.39
MhMYB48	1R-MYB	细胞核	113	12 810	60.21	-0.90	9.46	29.20	15.93	1.77	53.10
MhMYB49	1R-MYB	线粒体	83	9 480	54.68	-1.10	10.08	31.33	6.02	4.82	57.83
MhMYB50	R2R3-MYB	细胞核	976	110 680	51.60	-0.91	5.22	56.35	4.71	1.84	37.09

续表 1

编号	分类	亚细胞定位	氨基酸/个	相对分子质量	不稳定系数	亲疏水性	等电点	α -螺旋/%	延伸链/%	β -转角/%	无规则卷曲/%
MhMYB51	R2R3-MYB	细胞核	944	104 200	61.54	-0.67	5.09	24.79	9.75	1.91	63.56
MhMYB52	R2R3-MYB	细胞核	729	81 290	49.88	-0.86	5.94	55.28	3.57	1.65	39.51
MhMYB53	R2R3-MYB	细胞核	560	61 180	52.72	-0.60	5.31	21.96	4.46	3.57	70.00
MhMYB54	R2R3-MYB	细胞核	494	55 000	51.41	-0.78	5.30	23.68	20.45	9.51	46.36
MhMYB55	R2R3-MYB	细胞核	465	52 330	48.29	-0.82	6.63	25.59	4.73	4.09	65.59
MhMYB56	R2R3-MYB	细胞核	445	49 880	54.78	-0.81	7.23	25.39	8.76	5.39	60.45
MhMYB57	R2R3-MYB	细胞核	440	49 590	55.05	-0.84	6.11	28.18	11.82	6.59	53.41
MhMYB58	R2R3-MYB	细胞核	427	46 560	41.35	-0.42	5.80	32.55	8.67	5.39	53.40
MhMYB59	R2R3-MYB	细胞核	415	46 680	45.53	-0.83	6.49	28.19	5.30	1.93	64.58
MhMYB60	R2R3-MYB	细胞核	400	45 240	58.57	-0.81	9.30	26.50	15.75	6.00	51.75
MhMYB61	R2R3-MYB	细胞核	393	43 830	44.64	-0.71	6.37	36.13	5.60	3.31	54.96
MhMYB62	R2R3-MYB	细胞核	393	44 130	50.28	-0.70	5.15	25.70	16.54	6.87	50.89
MhMYB63	R2R3-MYB	细胞核	391	44 600	55.35	-0.72	5.11	38.62	3.32	3.32	54.73
MhMYB64	R2R3-MYB	细胞核	370	42 390	56.40	-0.93	9.41	52.70	6.49	4.05	36.76
MhMYB65	R2R3-MYB	细胞核	369	40 950	56.49	-0.72	5.68	28.73	7.05	1.08	63.14
MhMYB66	R2R3-MYB	细胞核	354	40 130	54.68	-0.74	6.39	28.53	12.15	4.80	54.52
MhMYB67	R2R3-MYB	细胞核	348	38 500	61.73	-0.66	9.17	29.31	12.93	6.61	51.15
MhMYB68	R2R3-MYB	细胞核	348	39 960	50.02	-1.01	4.92	32.18	9.48	3.74	54.60
MhMYB69	R2R3-MYB	细胞核	321	36 400	51.29	-0.69	6.55	37.38	5.92	2.80	53.89
MhMYB70	R2R3-MYB	细胞核	319	35 630	53.75	-0.59	5.90	26.96	15.67	7.52	49.84
MhMYB71	R2R3-MYB	细胞核	317	35 630	48.63	-0.51	5.31	36.28	5.99	3.79	53.94
MhMYB72	R2R3-MYB	细胞核	304	34 700	47.71	-0.85	8.62	23.36	11.84	6.58	58.22
MhMYB73	R2R3-MYB	细胞核	298	33 350	47.10	-0.68	9.10	34.90	4.70	6.04	54.36
MhMYB74	R2R3-MYB	细胞核	292	32 990	44.28	-0.52	5.72	37.33	5.48	1.37	55.82
MhMYB75	R2R3-MYB	细胞核	292	33 740	52.24	-0.89	8.92	26.71	10.27	6.85	56.16
MhMYB76	R2R3-MYB	细胞核	286	32 870	50.37	-0.72	5.52	26.57	11.19	5.59	56.64
MhMYB77	R2R3-MYB	细胞核	275	30 840	39.90	-0.63	5.66	25.09	7.27	5.82	61.82
MhMYB78	R2R3-MYB	细胞核	273	30 660	55.03	-0.71	4.72	33.33	5.49	4.40	56.78
MhMYB79	R2R3-MYB	细胞核	265	30 560	60.84	-0.83	5.88	26.79	13.21	5.66	54.34
MhMYB80	R2R3-MYB	细胞核	264	30 130	49.21	-0.91	9.66	48.11	5.30	3.41	43.18
MhMYB81	R2R3-MYB	细胞核	258	29 380	48.74	-0.68	5.86	32.17	3.49	3.88	60.47
MhMYB82	R2R3-MYB	细胞核	257	29 090	58.34	-0.75	4.79	28.02	5.84	3.89	62.26
MhMYB83	R2R3-MYB	细胞核	256	30 430	54.41	-1.01	9.46	37.11	9.77	3.91	49.22
MhMYB84	R2R3-MYB	细胞核	247	28 470	50.65	-0.77	6.33	34.01	8.91	9.72	47.37
MhMYB85	R2R3-MYB	细胞核	246	27 670	56.88	-0.50	5.90	52.44	3.66	2.03	41.87
MhMYB86	R2R3-MYB	细胞核	222	25 340	52.33	-0.79	5.26	35.59	4.95	4.50	54.95
MhMYB87	R2R3-MYB	细胞核	208	24 450	62.34	-0.87	6.37	22.60	12.02	4.33	61.06
MhMYB88	R2R3-MYB	细胞质	209	24 080	45.22	-0.40	6.71	40.67	13.40	6.70	39.23
MhMYB89	R2R3-MYB	细胞核	183	20 930	48.71	-0.78	9.96	55.74	2.73	6.01	35.52
MhMYB90	R2R3-MYB	细胞核	180	20 630	53.83	-0.89	7.71	44.44	6.67	9.44	39.44
MhMYB91	R2R3-MYB	线粒体	147	17 380	67.90	-0.91	9.89	52.38	2.04	7.48	38.10
MhMYB92	R2R3-MYB	细胞核	133	15 150	60.03	-0.84	9.03	39.10	7.52	6.02	47.37
MhMYB93	R2R3-MYB	细胞核	131	15 260	59.23	-0.93	10.10	27.48	13.74	9.16	49.62
MhMYB94	R2R3-MYB	线粒体	129	14 910	35.85	-0.63	9.85	32.56	10.08	9.30	48.06
MhMYB95	R2R3-MYB	线粒体	118	13 720	56.88	-0.61	10.18	30.51	12.71	11.86	44.92
MhMYB96	R2R3-MYB	细胞核	104	12 180	68.15	-0.75	9.82	37.50	5.77	7.69	49.04
MhMYB97	R2R3-MYB	线粒体	91	10 970	53.32	-1.08	10.23	42.86	4.40	6.59	46.15
MhMYB98	R2R3-MYB	细胞核	89	10 290	46.17	-0.57	9.66	31.46	5.62	14.61	48.31
MhMYB99	R2R3-MYB	细胞核	86	10 070	51.06	-0.93	8.64	60.47	3.49	6.98	29.07
MhMYB100	R2R3-MYB	线粒体	85	9950	57.80	-0.67	9.88	48.24	8.24	14.12	29.41
MhMYB101	R2R3-MYB	细胞核	77	8750	45.25	-0.74	10.45	48.05	3.90	12.99	35.06
MhMYB102	3R-MYB	细胞核	622	68 520	51.45	-0.68	9.22	25.72	8.20	3.38	62.70
MhMYB103	3R-MYB	细胞核	538	61 750	47.85	-0.61	9.37	50.93	5.20	3.90	39.96
MhMYB104	3R-MYB	细胞核	290	32 900	66.05	-0.82	4.95	41.03	4.14	3.79	51.03
MhMYB105	3R-MYB	细胞核	262	29 800	46.70	-0.46	9.05	46.95	6.49	8.02	38.55
MhMYB106	3R-MYB	线粒体	163	18 940	46.42	-0.88	9.69	51.53	0.00	9.20	39.26

示(图 1),多刺绿绒蒿 MYB 转录因子蛋白主要注释在细胞成分(cellular component, CC)、生物过程(biological process, BP)、和分子功能(molecular function, MF)3 大类。GO 富集分析结果显示,MYB 转录因子蛋白功能在细胞成分(cellular component, CC)方面主要富集在细胞核(GO: 0005634)、细胞上细胞器(GO: 0043229)和核糖体(GO: 0000786)

等细胞成分;生物过程(biological process, BP)中主要富集在细胞发育过程(GO: 0048869)、细胞分化(GO: 0030154)和生物合成调节(GO: 0048583)等方面;分子功能(molecular function, MF)方面主要富集在转录调节活性(GO: 0140110)、DNA 结合(GO: 0003677)和有机环化合物结合(GO: 0097159)等方面。

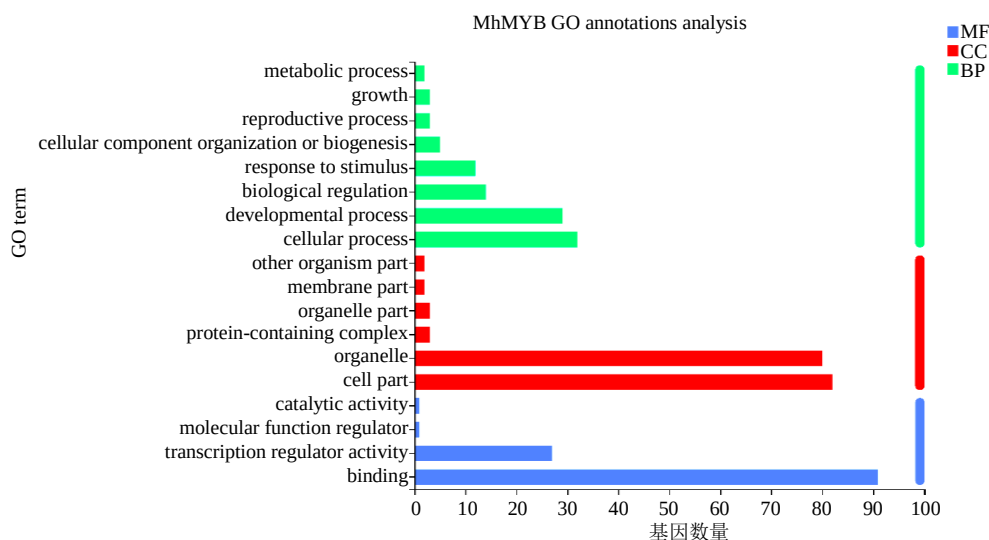


图 1 多刺绿绒蒿 MYB 转录因子家族 GO 注释

Fig. 1 GO annotation of MYB transcription factor family in *M. horridula*

3.3 多刺绿绒蒿 MYB 转录因子保守基序分析

为进一步说明多刺绿绒蒿 MYB 转录因子的多样性和进化关系,利用 MEME 网站进行保守基序分析,并结合系统发育树进行可视化(图 2)。结果显示,多刺绿绒蒿 MYB 转录因子家族共鉴定到 10 个保守基序,其中 motif3 (89.62%)、motif1 (51.89%) 和 motif7 (46.23%) 三者出现的频率较高。其中 2R-MhMYBs 亚家族基序保守性强,大多都包含了 motif2、motif3、motif5、motif1 和 motif7,且都位于蛋白序列 N 端。1R-MhMYBs 保守基序的数量较少且位置变化较大,大多都包含了 motif3 和 motif4。结合系统进化分析发现,同一亚家族具有相似的 motif 的种类与分布,不同亚家族在种类与分布上具有较大差异,且处于邻近分支的 MYB 转录因子的保守基序的位置结构与类型更相近。

3.4 多刺绿绒蒿 MYB 转录因子家族系统进化分析

对 106 个多刺绿绒蒿 MYB 转录因子与拟南芥 195 个 MYB 转录因子的蛋白序列进行多序列比对及系统进化分析(图 3)。结果显示,多刺绿绒蒿 MYB 转录因子不同亚家族成员均能与拟南芥相应类型的

转录因子聚类到一起,该结果与结构域鉴定分类结果基本一致,说明 MhMYBs 的鉴定及分类结果可靠,表明多刺绿绒蒿和拟南芥的 MYB 转录因子家族具有相似的进化过程,具有比较高的保守性。

为研究多刺绿绒蒿 R2R3-MhMYB 的系统进化关系,对多刺绿绒蒿与拟南芥 R2R3-MYB 转录因子构建系统发育树(图 4),并结合拟南芥 R2R3-MYB 蛋白亚组的分类依据^[3],将多刺绿绒蒿 R2R3-MYB 转录因子分为了 24 个亚组(C1~C24),其中有 18 个亚组能与拟南芥已分类亚组聚为一支,包括 C1(S4)、C6(S1)和 C10(S6)等,C3、C12 和 C14 等 6 个多刺绿绒蒿亚组包含拟南芥未分类的转录因子,有 S3、S10、S12、S15 和 S16 这 5 个拟南芥亚组未能与多刺绿绒蒿 MYB 转录因子聚类。多刺绿绒蒿与拟南芥 R2R3-MYB 转录因子的聚类结果表明,聚类在一起的转录因子具有较高的同源性与序列相似性,并可能具有类似的功能,多刺绿绒蒿与拟南芥物种后期朝不同的进化方向发展,也导致了部分 R2R3-MYB 转录因子的特异性分化。



图 2 多刺绿绒蒿 MYB 转录因子蛋白保守 motif

Fig. 2 Motif analysis of MYB transcription factors in *M. horridula*

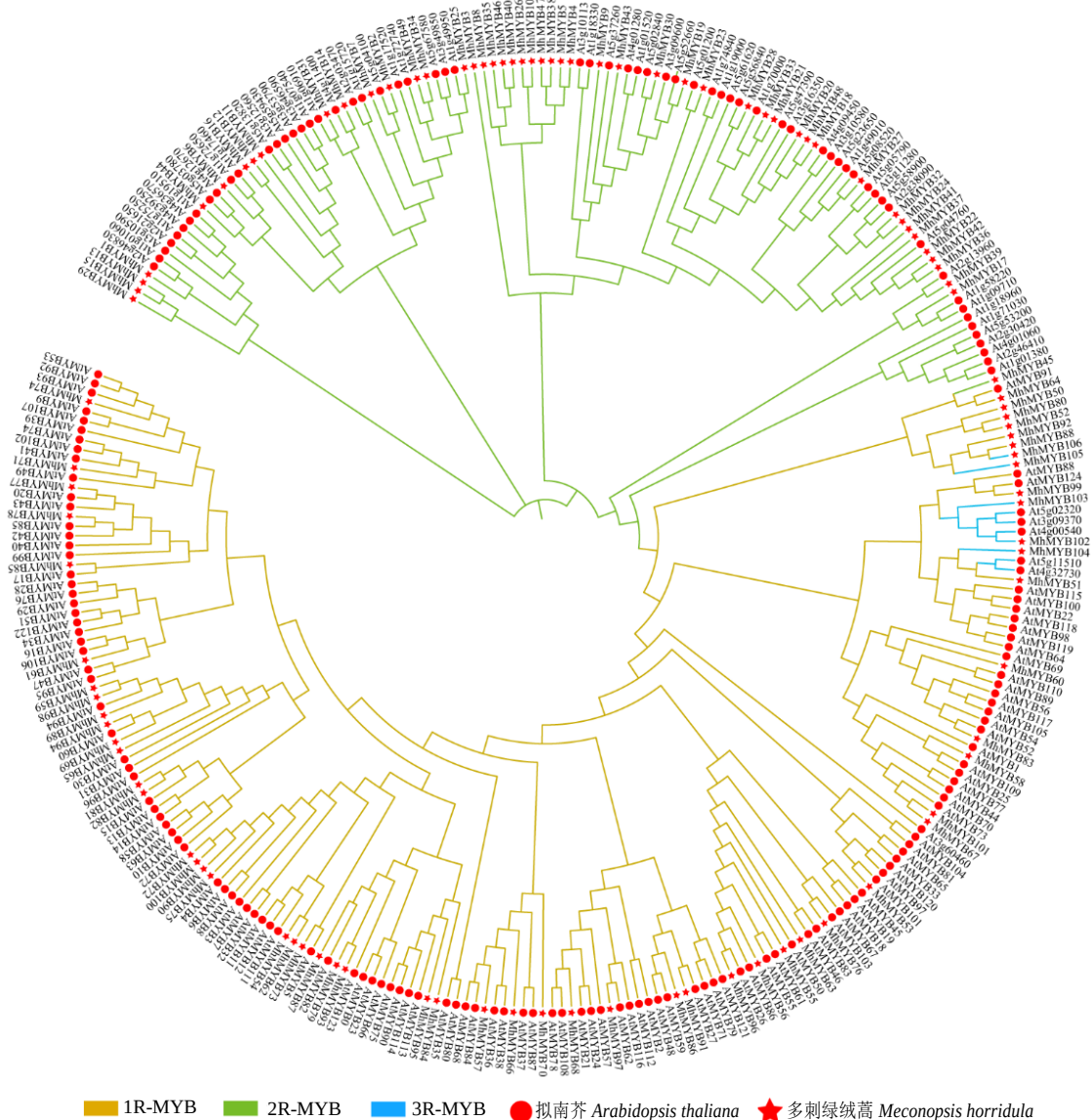


图 3 多刺绿绒蒿和拟南芥 MYB 转录因子家族系统进化树

Fig. 3 Phylogenetic tree of MYB transcription factors in *M. horridula* and *A. thaliana*

3.5 多刺绿绒蒿 R2R3-MYB 转录因子特征结构域分析

为研究多刺绿绒蒿 R2R3-MYB 转录因子的结构域同源性特征,进一步展示在特定位置的保守性,分别对多刺绿绒蒿和拟南芥 R2R3-MYB 蛋白序列进行多序列比对分析,并对 R2 和 R3 保守结构域特征进行可视化(图 5)。结果显示多刺绿绒蒿 R2R3-MYB 蛋白与拟南芥 R2R3-MYB 蛋白相似,在 R2 和 R3 重复序列中存在多个保守的氨基酸,尤其是特征色氨酸(W),且都具有 [-W-(X19)-W-(X19)-W-] 和 [-F-(X18)-W-(X18)-W-] 结构域;其中 R2 结构域包括 3 个极度保守的色氨酸(W),每 2 个色氨酸

残基间隔 19 个氨基酸残基;R3 结构域包括 2 个极度保守的色氨酸(W),第 1 个色氨酸被苯丙氨酸(F)、异亮氨酸(I)及亮氨酸(L)取代,第 2 个色氨酸和第 3 个色氨酸残基间隔 18 个氨基酸残基;除高度保守的色氨酸(W)外,R2 和 R3 结构中也存在如赖氨酸(K)、苏氨酸(T)、精氨酸(R)、天冬酰胺(N)、甘氨酸(G)和谷氨酸(E)等保守氨基酸残基,这类保守氨基酸残基通常出现在各重复区的后半部分,即第 2 和第 3 个的保守色氨酸之间的区域,且在每个重复区中与前 2 个螺旋区域相比第 3 个螺旋区保守性更高,表明这类保守氨基酸残基具有维持 MYB 结构域的 HTH 结构的作用。

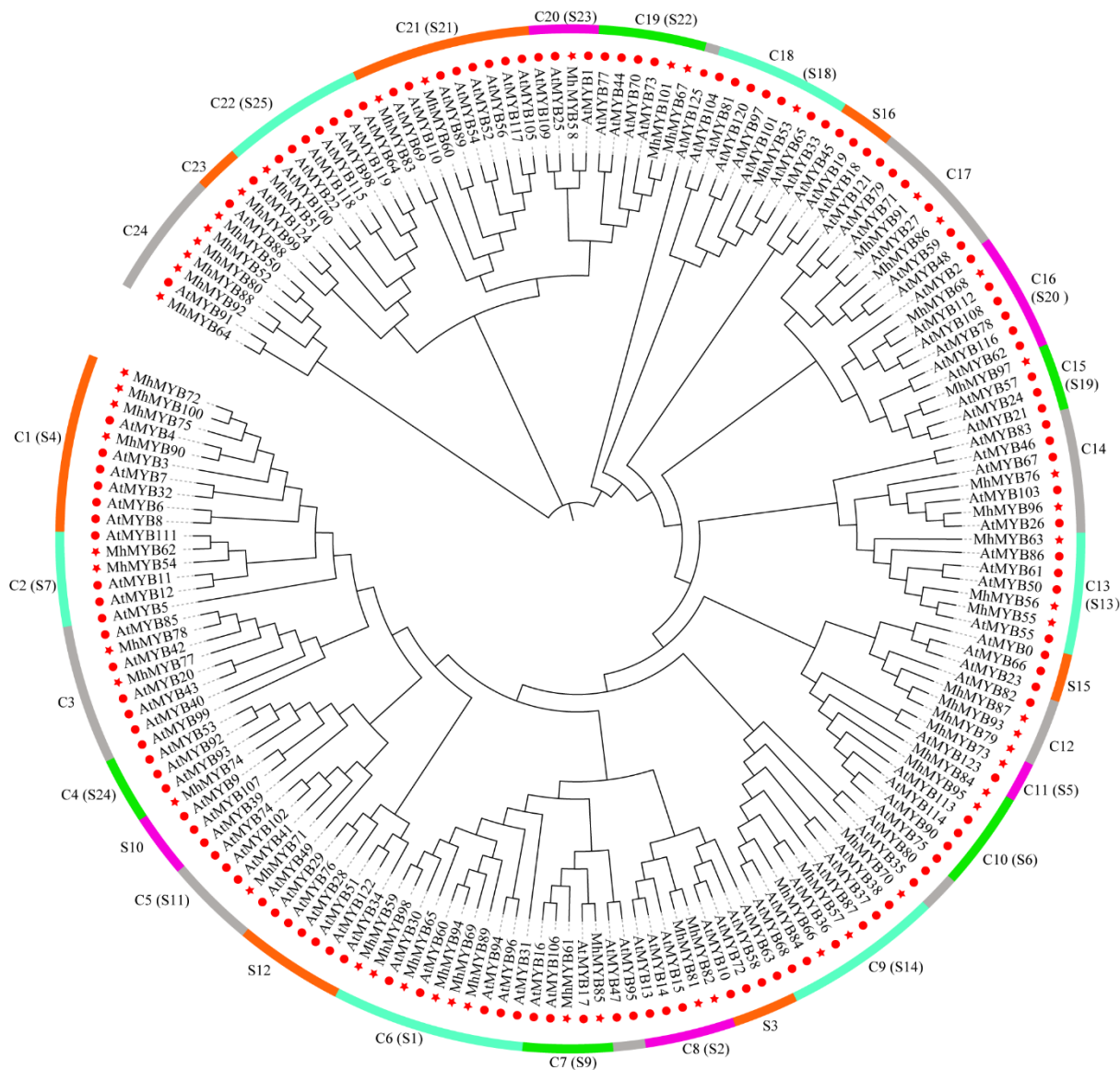
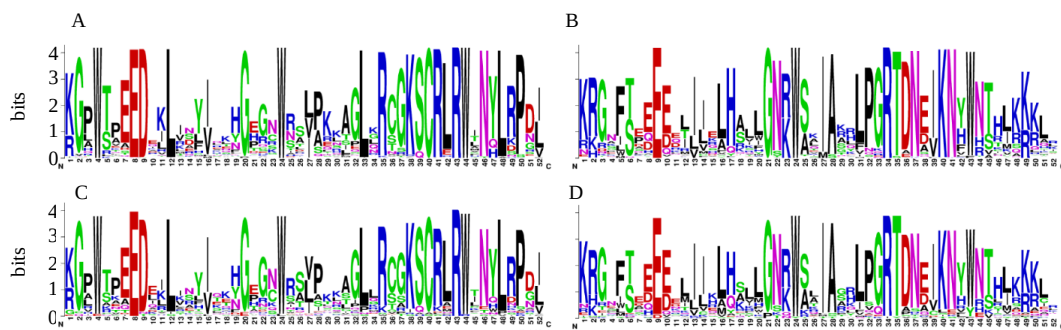


图 4 多刺绿绒蒿与拟南芥 R2R3-MYB 系统进化树

Fig. 4 Phylogenetic tree of R2R3-MYB of *M. horridula* and *A. thaliana*



A-拟南芥 R2 B-拟南芥 R3 C-多刺绿绒蒿 R2 D-多刺绿绒蒿 R3

A-A. thaliana R2 B-A. thaliana R3 C-M. horridula R2 D-M. horridula R3

图 5 多刺绿绒蒿和拟南芥 R2R3-MYB 转录因子特征结构域序列标识

Fig. 5 Conserved domain logos of R2R3-MYB transcription factors in *M. horridula* and *A. thaliana*

3.6 多刺绿绒蒿 MYB 转录因子表达分析

MYB 转录因子在非生物胁迫及植物黄酮类代谢方面具有重要调节作用,多刺绿绒蒿生长于青藏高原高海拔地区,生长环境恶劣多变,为探究多刺绿绒蒿 MYB 转录因子在不同海拔间的潜在关系,研究多刺绿绒蒿 R2R3-MYB 转录因子与黄酮类合成途径和非生物胁迫相关基因在不同海拔的表达特异性,对多刺绿绒蒿 MYB 转录因子进行表达模式分析(图 6)。结果显示,106 个 MYB 转录因子中,有 28 个转录因子的表达量随海拔升高而升高,11 个转录因子表达量随海拔升高而降低。52 个 R2R3-MYB 转录因子中,14

个转录因子的表达量变化与海拔变化一致,5 个转录因子表达量与海拔变化相反。其中 MhMYB90、MhMYB84 和 MhMYB62 分别聚类到拟南芥黄酮类代谢物相关的 S4、S6、S7 亚组,表达量均与海拔呈正相关;MhMYB 81、MhMYB 82, MhMYB63、MhMYB56、MhMYB55, MhMYB83, MhMYB101, MhMYB 58 分别聚类到拟南芥非生物胁迫相关的 S2、S13、S21、S22、S23 亚组,其中 MhMYB81, MhMYB63、MhMYB56、MhMYB55, MhMYB83, MhMYB101, MhMYB58 表达量变化与海拔变化一致, MhMYB82 表达量变化与海拔变化相反。

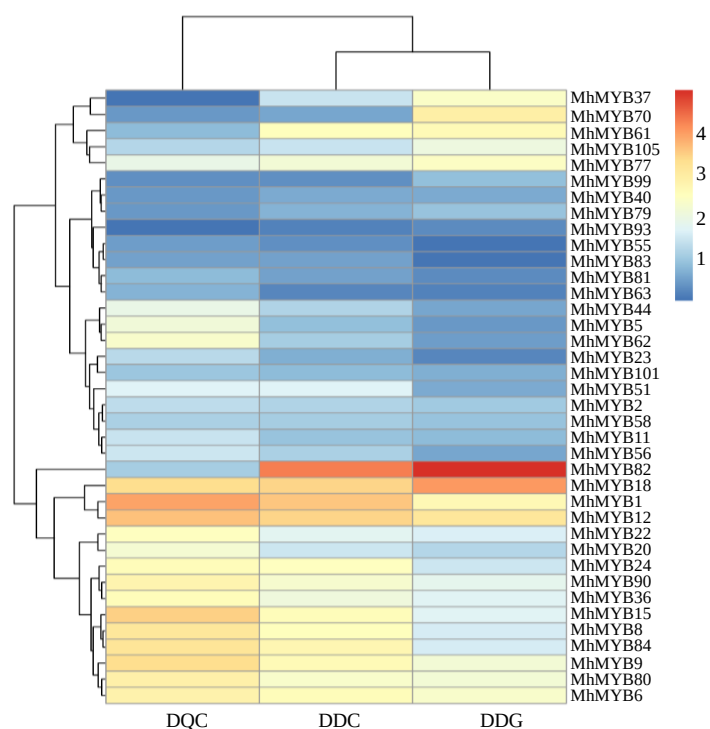


图 6 不同海拔梯度下多刺绿绒蒿 MYB 转录因子的表达量分析

Fig. 6 Expression profiles of MYB transcription factors of *M. horridula* in different altitude gradients

4 讨论

MYB 转录因子具有特有的 MYB DNA 结合域,能够特异结合基因启动子区域的作用元件,根据植物生长发育及环境变化调控相关的基因的转录表达,是植物生长过程中的重要调节因子^[26],对植物生长发育具有重要意义。目前已在拟南芥、小麦、大豆、刺梨、柑橘和杨梅等多个物种中被鉴定^[27-30]。本研究基于多刺绿绒蒿转录组数据鉴定获得了 106 个 MYB 转录因子,其中包含 49 个 1R-MYB、52 个 R2R3-MYB 和 5 个 3R-MYB,通过对多刺绿绒蒿 MYB 转录因子理化性质预测显示,多刺绿绒蒿

MYB 转录因子均为亲水性蛋白质,53 个蛋白偏酸性,53 个蛋白偏碱性。不稳定系数显示多刺绿绒蒿 MYB 转录因子中除了 7 个为稳定蛋白,其余 99 个都为不稳定蛋白,这与王静文等^[31]对细叶百合的研究结果相类似。在亚细胞定位中预测到细胞核、线粒体和细胞质 3 种类型,且主要在细胞核中发挥作用,这与 Cao 等^[32]分析 MYB 转录因子在中国梨的细胞核中发挥重要作用相似。二级结构预测表明多刺绿绒蒿 MYB 转录因子家族成员存在 4 种二级结构,其中 α -螺旋结构和无规则卷曲占比较高,蛋白质的二级结构与蛋白质的功能息息相关,表明这 2

种结构更有助于 MYB 蛋白质的结构形成,这与张耐等^[33]对甘草 MYB 的研究及李明明等^[34]对谷子 MYB-CC 研究结果相一致。

多刺绿绒蒿保守基序分析表明,各亚家族 motif 组成相对保守,聚类到同一分支的 MYB 因子具有更为相似的 motif 组成和分布类型,而不同分支间则有所差异,这与谷佳等^[35]对三色堇 MYB 转录因子的研究相一致。保守基序分析能够展现该家族进化过程中的结构特点,为其功能研究提供理论基础,相似的保守基序组成和分布表明其可能在多刺绿绒蒿的生长发育过程中具有相似的功能作用,而距离较远的分支其保守基序的位置与结构的出现差异可能是造成转录因子功能分化的重要因素^[36]。对多刺绿绒蒿 R2R3-MYB 特征结构域分析表明,该亚家族转录因子均含有 [-W-(X19)-W-(X19)-W-] 和 [-F-(X18)-W-(X18)-W-] 的 2 个相邻的典型结构域,这与 Liu 等^[37]对水稻 R2R3-MYB 的研究结果一致,表明多刺绿绒蒿 R2R3-MYB 转录因子在 DNA 结合结构域上具有较高的保守性,且在序列比对中发现在重复序列的第一个螺旋区及其临近区域的保守性相对较低,常会发生氨基酸插入和缺失情况,推测该区域可能是该基因家族进化和功能分化的活跃区域,而色氨酸与其余保守度较高的氨基酸残基对共同维持 HTH 结构具有重要意义。

在植物中 MYB 家族有选择性地扩张,其中 R2R3-MYB 是植物中存在最广泛的一类 MYB 转录因子,该亚家族成员因在植物生命活动中发挥的重要作用而被广泛研究^[38]。在多刺绿绒蒿中 R2R3-MYB 转录因子可划分为 24 个亚组,其中有 18 个亚组中含有不同数量已分类亚组的 AtMYB 和 MhMYB 蛋白,说明 MYB 转录因子进化过程相对保守^[8]。拟南芥作为模式物种,MYB 转录因子的功能研究较多,以拟南芥 AtMYBs 的功能作为参考,结合系统发育关系和表达分析,为探讨多刺绿绒蒿 MYB 转录因子的功能探究提供重要参考。聚类结果表明,MhMYB61 与拟南芥 S9 的 AtMYB16 聚类在一支,拟南芥 AtMYB16 有助于花瓣表皮细胞的形成的功能^[39];MhMYB77 与 AtMYB20 聚类到一支,拟南芥 AtMYB20 参与调控拟南芥次生细胞壁形成过程中木脂素和苯丙氨酸的生物合成^[40]。在多刺绿绒蒿中有 4 个 (MhMYB72、MhMYB100、MhMYB75、MhMYB90)、2 个 (MhMYB84、MhMYB95) 和 2 个 (MhMYB62、MhMYB54)

转录因子分别与拟南芥中黄酮类化合物的调控机制以及花青素积累相关的 S4、S6 和 S7 亚组聚类为一支^[41-43],推测此类多刺绿绒蒿转录因子也具有相似功能,表达量分析显示其中 MhMYB72、MhMYB75、MhMYB90、MhMYB84 和 MhMYB62 这 5 个转录因子在两个高海拔居群中的表达量均高于低海拔居群,这可能与高海拔居群植株会生成黄酮类物质应对强光辐射以及干旱环境相关。拟南芥 S4 亚组中的 AtMYB4、AtMYB32 和 AtMYB7 调控和表达能够增强植物应对强紫外线胁迫的能力^[44],聚类到同支的多刺绿绒蒿转录因子在高海拔居群中的上调表达可能也在多刺绿绒蒿应对紫外线胁迫中发挥重要作用。拟南芥 S1、S11、S13、S21、S22、S23 亚组主要与抗旱抗寒等非生物胁迫相关^[45-48],在多刺绿绒蒿的聚类和分析显示共有 15 个转录因子分别聚类在 S1、S11、S13、S21、S22 和 S23 这类亚组当中,其中有 10 个转录因子在高海拔地区表达上调,说明多刺绿绒蒿在应对更高海拔恶劣环境时会通过抗逆相关的转录因子的表达来调控次级代谢通路以应对胁迫环境,维持自身正常的生命活动。

目前,多刺绿绒蒿 MYB 转录因子的相关研究还非常欠缺,MYB 转录因子在多刺绿绒蒿生长发育调控及非生物胁迫的响应机制还不清楚,本研究通过生物信息学方法,鉴定了多刺绿绒蒿的 MYB 转录因子,并系统地对该家族成员进行了基本理化性质、系统进化关系和表达模式等分析。为今后深入研究 MYB 转录因子在多刺绿绒蒿生长发育中的作用和应对高原极端环境的调控机制提供了参考基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Rosinski J A, Atchley W R. Molecular evolution of the myb family of transcription factors: Evidence for polyphyletic origin [J]. *J Mol Evol*, 1998, 46(1): 74-83.
- [2] Ogata K, Hojo H, Aimoto S, et al. Solution structure of a DNA-binding unit of Myb: A helix-turn-helix-related motif with conserved tryptophans forming a hydrophobic core [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89(14): 6428-6432.
- [3] Dubos C, Stracke R, Grotewold E, et al. MYB transcription factors in *Arabidopsis* [J]. *Trends Plant Sci*, 2010, 15(10): 573-581.
- [4] 杨敬天, 黎华, 赵欢, 等. 过路黄 MYB 转录因子家族

- 成员的挖掘及鉴定 [J]. 中草药, 2022, 53(16): 5149-5158.
- [5] 张军霞, 郭巧生, 朱再标, 等. 老鸦瓣芽茎发育相关 MYB 转录因子家族鉴定与分析 [J]. 中草药, 2021, 52(6): 1735-1743.
- [6] Stracke R, Werber M, Weisshaar B. The R2R3-MYB gene family in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2001, 4(5): 447-456.
- [7] 杨晶婷, 余艳, 高晓蓉, 等. MYB 类转录因子调控植物耐逆机制的研究进展 [J]. 杭州师范大学学报: 自然科学版, 2021, 20(6): 621-627.
- [8] 牛义岭, 姜秀明, 许向阳. 植物转录因子 MYB 基因家族的研究进展 [J]. 分子植物育种, 2016, 14(8): 2050-2059.
- [9] Cao Z H, Zhang S Z, Wang R K, et al. Genome wide analysis of the apple MYB transcription factor family allows the identification of MdoMYB121 gene conferring abiotic stress tolerance in plants [J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): e69955.
- [10] Cao Y L, Jia H M, Xing M Y, et al. Genome-wide analysis of MYB gene family in Chinese bayberry (*Morella rubra*) and identification of members regulating flavonoid biosynthesis [J]. *Front Plant Sci*, 2021, 12: 691384.
- [11] Zhang P, Wang R L, Yang X P, et al. The R2R3-MYB transcription factor AtMYB49 modulates salt tolerance in *Arabidopsis* by modulating the cuticle formation and antioxidant defence [J]. *Plant Cell Environ*, 2020, 43(8): 1925-1943.
- [12] Vannini C, Locatelli F, Bracale M, et al. Overexpression of the rice *Osmyb4* gene increases chilling and freezing tolerance of *Arabidopsis thaliana* plants [J]. *Plant J*, 2004, 37(1): 115-127.
- [13] Feng C P, Andreasson E, Maslak A, et al. *Arabidopsis* MYB68 in development and responses to environmental cues [J]. *Plant Sci*, 2004, 167(5): 1099-1107.
- [14] 赵凤, 张和新歌, 白睿峰, 等. 藏药多刺绿绒蒿的化学和药理学研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(19): 3676-3683.
- [15] 马应龙. 多刺绿绒蒿化学成分的研究 [D]. 西宁: 青海师范大学, 2008.
- [16] 蒋欣豪, 王慧琳, 勉瑞莎, 等. 青藏高原绿绒蒿的药用研究进展 [J]. 青海草业, 2022, 31(1): 33-36.
- [17] 李长山, 王聚乐, 普珍, 等. 藏药多刺绿绒蒿提取物体外抗流感病毒作用的初步研究 [J]. 中药药理与临床, 2012, 28(5): 130-132.
- [18] 郭志琴. 藏药多刺绿绒蒿抗心肌缺血作用与化学成分研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2014.
- [19] 袁瑞瑛, 旦欧, 次登, 等. 藏药多刺绿绒蒿化学成分研究现状 [J]. 西藏科技, 2012(5): 64.
- [20] 吴海妹, 袁瑞瑛, 小尼玛顿珠, 等. 多刺绿绒蒿的化学成分 [J]. 药学与临床研究, 2012, 20(4): 314-316.
- [21] 马明芳, 丁克毅, 丁立生, 等. 多刺绿绒蒿的化学成分研究 [J]. 华西药学杂志, 2009, 24(3): 227-229.
- [22] Guo Z Q, Guo Q, Zhang S Y, et al. Chemical constituents from the aerial parts of *Meconopsis horridula* (Papaveraceae) [J]. *Biochem Syst Ecol*, 2014, 55: 329-332.
- [23] Iwashina T, Yokoyama K, Yangzom R, et al. Anthocyanins and flavonols from the blue flowers of six *Meconopsis* species in Bhutan [J]. *Biochem Syst Ecol*, 2019, 86: 103925.
- [24] Iwashina T. Flavonoid function and activity to plants and other organisms [J]. *Biol Sci Space*, 2003, 17(1): 24-44.
- [25] 赵泽军, 郭玫, 孙政华, 等. 藏药绿绒蒿的分类、化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中国药房, 2016, 27(31): 4391-4394.
- [26] Du H, Wang Y B, Xie Y, et al. Genome-wide identification and evolutionary and expression analyses of MYB-related genes in land plants [J]. *DNA Res*, 2013, 20(5): 437-448.
- [27] Huang X L, Yan H Q, Zhai L S, et al. Characterization of the *Rosa roxburghii* Tratt transcriptome and analysis of MYB genes [J]. *PLoS One*, 2019, 14(3): e0203014.
- [28] Du H, Yang S S, Liang Z, et al. Genome-wide analysis of the MYB transcription factor superfamily in soybean [J]. *BMC Plant Biol*, 2012, 12: 106.
- [29] Hou X J, Li S B, Liu S R, et al. Genome-wide classification and evolutionary and expression analyses of citrus MYB transcription factor families in sweet orange [J]. *PLoS One*, 2014, 9(11): e112375.
- [30] Zhang L C, Zhao G Y, Jia J Z, et al. Molecular characterization of 60 isolated wheat MYB genes and analysis of their expression during abiotic stress [J]. *J Exp Bot*, 2012, 63(1): 203-214.
- [31] 王静文, 谭萌萌, 孙绍营, 等. 基于转录组信息的细叶百合 MYB 转录因子家族分析 [J]. 分子植物育种, 2021: 1-12.
- [32] Cao Y P, Han Y H, Li D H, et al. MYB transcription factors in Chinese pear (*Pyrus bretschneideri* Rehd.): Genome-wide identification, classification, and expression profiling during fruit development [J]. *Front Plant Sci*, 2016, 7: 577.
- [33] 张耐, 冉娟, 包松明, 等. 甘草 MYB 转录因子基因家族的鉴定及表达分析 [J]. 分子植物育种, 2022, 23: 1-29.

- [34] 李明明, 晋敏姍, 胡海斌, 等. 谷子 MYB-CC 基因家族的鉴定与表达分析 [J]. 激光生物学报, 2021, 30(3): 259-269.
- [35] 谷佳, 王童欣, 饶英, 等. 基于三色堇(*viola × witttrikiana* Gams.) 全长转录组的 MYB 基因家族的鉴定 [J]. 江苏农业科学, 2022: 16: 1-9.
- [36] 黄建国, 张超群, 张驰, 等. 小麦 MYB 转录因子家族的生物信息学分析 [J]. 天津师范大学学报: 自然科学版, 2021, 41(5): 38-45.
- [37] Lin J, Clegg M T, Jiang T. Evolutionary dynamics of the DNA-binding domains in putative R2R3-MYB genes identified from rice subspecies indica and japonica genomes [J]. *Plant Physiol*, 2004, 134(2): 575-585.
- [38] Riechmann J L, Ratcliffe O J. A genomic perspective on plant transcription factors [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2000, 3(5): 423-434.
- [39] Baumann K, Perez-Rodriguez M, Bradley D, et al. Control of cell and petal morphogenesis by R2R3 MYB transcription factors [J]. *Development*, 2007, 134(9): 1691-1701.
- [40] Geng P, Zhang S, Liu J Y, et al. MYB20, MYB42, MYB43, and MYB85 regulate phenylalanine and lignin biosynthesis during secondary cell wall formation [J]. *Plant Physiol*, 2020, 182(3): 1272-1283.
- [41] Borevitz J O, Xia Y, Blount J, et al. Activation tagging identifies a conserved MYB regulator of phenylpropanoid biosynthesis [J]. *Plant Cell*, 2000, 12(12): 2383-2394.
- [42] Gonzalez A, Zhao M Z, Leavitt J M, et al. Regulation of the anthocyanin biosynthetic pathway by the TTG1/bHLH/Myb transcriptional complex in *Arabidopsis* seedlings [J]. *Plant J*, 2008, 53(5): 814-827.
- [43] Stracke R, Ishihara H, Huep G, et al. Differential regulation of closely related R2R3-MYB transcription factors controls flavonol accumulation in different parts of the *Arabidopsis thaliana* seedling [J]. *Plant J*, 2007, 50(4): 660-677.
- [44] Jin H, Cominelli E, Bailey P, et al. Transcriptional repression by AtMYB4 controls production of UV-protecting sunscreens in *Arabidopsis* [J]. *EMBO J*, 2000, 19(22): 6150-6161.
- [45] Zhong R Q, Lee C H, Zhou J L, et al. A battery of transcription factors involved in the regulation of secondary cell wall biosynthesis in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2008, 20(10): 2763-2782.
- [46] Seo P J, Xiang F N, Qiao M, et al. The MYB96 transcription factor mediates abscisic acid signaling during drought stress response in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2009, 151(1): 275-289.
- [47] Jung C, Seo J S, Han S W, et al. Overexpression of AtMYB44 enhances stomatal closure to confer abiotic stress tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2008, 146(2): 623-635.
- [48] Cominelli E, Galbiati M, Vavasseur A, et al. A guard-cell-specific MYB transcription factor regulates Stomatal movements and plant drought tolerance [J]. *Curr Biol*, 2005, 15(13):1196-1200.

[责任编辑 时圣明]