

柔毛淫羊藿 MYB 转录因子家族的全基因组鉴定及其光质调控下表达分析

张高阳^{1,3}, 刘汶泽^{1,3}, 宋腾达^{1,3}, 谷亚飞¹, 王雅洁¹, 吴政霆¹, 初雷霞^{1,3}, 董宁^{1,3}, 万婕²,
张雪娇⁵, 杨林林^{1,3,4*}, 董诚明^{1,3}, 冯卫生^{1,4}

1. 河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046

2. 河南中医药大学第一附属医院, 河南 郑州 450046

3. 河南省道地药材生态种植工程技术研究中心, 河南 郑州 450046

4. 河南省中药开发工程技术研究中心, 河南 郑州 450046

5. 河南庚贤堂制药有限公司, 河南 荥阳 450121

摘要: 目的 光因子是叶用药用植物生长发育及次生代谢形成的重要生态因子之一, 对柔毛淫羊藿 *Epimedium pubescens* MYB 转录因子家族 (*EpMYB*) 进行全基因组鉴定及表达特征分析, 深入研究 *EpMYB* 响应光因子下的生物学功能。方法 基于已发布的柔毛淫羊藿全基因组, 利用生物信息学方法对 *EpMYB* 基因家族成员进行鉴定并对其理化性质、染色体分布、系统进化、基因结构、顺式作用元件进行分析, 利用实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 分析其在不同光质下柔毛淫羊藿叶片表达特征。结果 鉴定出 87 个 *EpMYB* 基因 (*EpMYB1*~*EpMYB87*), 细分为 14 个亚家族, 编码的氨基酸长度在 150~561 aa, 蛋白质相对分子质量为 17 857.76~61 369.56, 等电点介于 4.62~10.75。基因结构分析发现所有 *EpMYB* 基因均含有相似保守结构域, 顺式元件预测结果表示光响应元件、茉莉酸甲酯、生长素元件在 *EpMYB* 基因家族启动子区域分布广泛。基因组内共线性分析表明, 全基因组复制和片段性复制在 *EpMYB* 基因家族进化中发挥了重要作用, 复制过后经过了强烈的纯化选择。对 24 个潜在光响应的 *EpMYB* 基因进行 RT-qPCR 表达特征分析, 结果表明, 黄、蓝光处理下对显著上调表达的 *EpMYB* 基因的数量远高于红光, 蓝光显著上调 *EpMYB25* 等 14 个 *EpMYB* 基因的表达, 黄光显著上调 *EpMYB16* 等 7 个 *EpMYB* 基因的表达, 红光处理下仅 *EpMYB54*、*EpMYB57* 基因显著上调。结论 从全基因组水平对柔毛淫羊藿 *EpMYB* 基因的功能奠定基础。

关键词: 柔毛淫羊藿; MYB 转录因子; 生物信息学; 基因家族; 共线性分析; 表达特征

中图分类号: R283 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2026)03-1077-14

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.03.024

Genome-wide identification of MYB transcription factor family in *Epimedium pubescens* and expression analysis under light quality regulation

ZHANG Gaoyang^{1,3}, LIU Wenzhe^{1,3}, SONG Tengda^{1,3}, GU Yafei¹, WANG Yajie¹, WU Zhengting¹, CHU Leixia^{1,3},
DONG Ning^{1,3}, WAN Jie², ZHANG Xuejiao⁵, YANG Linlin^{1,3,4}, DONG Chengming^{1,3}, FENG Weisheng^{1,4}

1. School of Pharmacy, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

2. The First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine Zhengzhou 450046, China

3. Henan Provincial Ecological Planting Engineering Technology Research Center of Authentic Medicinal Materials, Zhengzhou 450046, China

4. Engineering and Technology Center for Chinese Medicine Development of Henan Province, Zhengzhou 450046, China

5. Henan Gengxiantang Pharmaceutical Co., Ltd., Xingyang 450121 China

Abstract: Objective Light is one of the important ecological factors for the growth, development, and secondary metabolism of leaf-

收稿日期: 2025-09-02

基金项目: 河南省重点研发专项 (251111310500); 河南省重点研发专项 (31111312700); 河南省重点研发专项 (241111310200); 国家自然科学基金资助项目 (82104329); 国家自然科学基金资助项目 (32401226); 中国博士后科学基金特别资助项目 (2014T170252); 河南省国际科技合作项目 (242102521056); 河南中医药大学科研苗圃工程资助项目 (MP2024-56)

作者简介: 张高阳, 男, 硕士研究生, 研究方向为药用植物生理与生态学。E-mail: 2302285587@qq.com

*通信作者: 杨林林, 男, 博士, 副教授, 从事药用植物生态学研究。E-mail: yangll-hatcm@hactcm.edu.cn

using medicinal plants. To conduct genome-wide identification and expression characterization analysis of the MYB transcription factor family (*EpMYB*) in *Epimedium pubescens*, and to deeply explore the biological functions of *EpMYB* in response to light factors.

Methods Based on the published genome of *E. pubescens*, bioinformatics methods were used to identify members of the *EpMYB* gene family, and analyze their physicochemical properties, chromosomal distribution, phylogenetic evolution, gene structure, and cis-acting elements. Real-time quantitative PCR (RT-qPCR) was applied to analyze the expression characteristics of *EpMYB* in *E. pubescens* leaves under different light qualities. **Results** A total of 87 *EpMYB* genes (*EpMYB1* to *EpMYB87*) were identified, which were subdivided into 14 subfamilies. The encoded amino acids ranged from 150 to 561 aa, with relative molecular weights of proteins from 17 857.76 to 61 369.56 and isoelectric points between 4.62 and 10.75. Gene structure analysis showed that all *EpMYB* genes contained similar conserved domains. Cis-element prediction indicated that light-responsive elements, methyl jasmonate, and auxin elements were widely distributed in the promoter regions of the *EpMYB* gene family. Genome-wide collinearity analysis revealed that whole-genome duplication and segmental duplication played crucial roles in the evolution of the *EpMYB* gene family, and strong purifying selection occurred after duplication. RT-qPCR analysis of the expression characteristics of 24 potential light-responsive *EpMYB* genes showed that the number of *EpMYB* genes significantly upregulated under yellow and blue light was much higher than that under red light. Blue light significantly upregulated the expression of 14 *EpMYB* genes such as *EpMYB25*, yellow light significantly upregulated seven *EpMYB* genes such as *EpMYB16*, and only *EpMYB54* and *EpMYB57* were significantly upregulated under red light. **Conclusion** Genome-wide identification and bioinformatics analysis of the *EpMYB* gene family in *E. pubescens* revealed that *EpMYB* genes respond more actively to blue light regulation, laying a foundation for further clarification of the functions of *EpMYB* genes in *E. pubescens*.

Key words: *Epimedium pubescens* Maxim.; MYB transcription factor; bioinformatics; gene family; collinearity analysis; expression characteristics

柔毛淫羊藿 *Epimedium pubescens* Maxim. 为小檗科淫羊藿属多年生草本植物, 以干燥叶入药是药材淫羊藿的基原植物之一。淫羊藿味辛、甘, 性温, 具有补肝肾、强筋骨、祛风湿的功效, 临床应用广泛^[1], 其最早记载于《神农本草经》中品, 现代药理学研究发现, 淫羊藿苷等次生代谢产物是其主要活性成分, 具有提高免疫力和抗肿瘤等药理活性^[2-3]。因本身具有较高的药用价值, 被认为是最具开发前景的药用植物之一。

光作为影响植物生长发育的重要生态因子之一, 光强、光质和光周期的变化均会对植物生长发育产生影响, 其中光质对植物的影响是最为复杂的^[4], 光质作为光环境中的关键影响因子^[5], 通过光受体传导途径调节植物的整个生命周期, 不仅为植物光合作用提供原初反应的能量, 而且也是调控植物形态建成、叶绿素含量和叶绿体发育、光合作用和次生代谢的重要信号分子。但是光质不同对不同的植物也会产生很大的差异。研究表明, 蓝光通过调控箭叶淫羊藿叶片中黄酮类化合物的生物合成途径, 显著促进了其活性成分的积累^[6]; 另有研究与自然光相比, 黄光、蓝光和红光 3 种光质对黄芪地上、地下部生长量均有降低, 但单株经济产量显著增高^[7], 这是因光质触发了不同的光受体, 从而影响了植物的生长发育和次生代谢等活动^[8-10]。柔毛淫

羊藿作为典型的阴生药用植物, 对于光调控下柔毛淫羊藿生长发育及次生代谢合成相关机制的认识仍然有限。

MYB 转录因子 (MYB transcription factor) 在黄酮类植物中的研究近年来取得了显著进展, 在对 MYB 转录因子研究不断深入, 发现 MYB 转录因子家族以 R2R3-MYB 亚家族为主导, 其结构保守性与功能特异性在黄酮代谢调控中尤为突出。有研究者表明, 拟南芥 AtMYB12 通过直接结合查耳酮合成酶 (CHS) 和黄酮醇合成酶 (FLS) 启动子, 特异性激活黄酮醇合成^[11]。苦荞 FtMYB3 则通过竞争性结合 bHLH/WD40 蛋白, 抑制 MBW 复合体形成, 负调控花青素和原花青素积累^[12]。另有研究者表明, MYB 转录因子通过环境胁迫 (如盐、干旱、光照) 表观修饰或直接激活 MYB 基因表达。例如, 水分胁迫诱导三叶青 ThMYB14 结合黄酮合成基因启动子, 显著提升类黄酮含量^[13]; 盐胁迫下银杏 GbMYB11 通过激活 *F3'H* 和 *FLS* 基因, 增强活性氧清除能力^[14]。MYB 转录因子对植物体内黄酮类成分合成具有重要作用, 通过对近几年文献梳理发现在对柔毛淫羊藿研究过程中, 尚未深入研究 MYB 转录因子家族对柔毛淫羊藿生长发育及次生代谢形成的调控机制。

本实验通过对柔毛淫羊藿 MYB 基因家族进行

了全基因组鉴定与分析,运用最大似然法(maximum likelihood, ML)构建了发育树,并将 MYB 基因分为不同的分支。分析 $EpMYB$ 基因的基本组成,寻找 $EpMYB$ 基因与蛋白质在结构和组成上的差异。并对柔毛淫羊藿植株使用不同光质处理,进一步分析 $EpMYB$ 基因在不同光照条件下全长转录组表达数据分析基因表达差异。本课题组将 $EpMYB$ 与拟南芥中的 $AtMYB$ 进行对比,推测出与黄酮类合成有关的24个 $EpMYB$,挑选部分 $EpMYB$ 基因在不同光质的柔毛淫羊藿进行实时荧光定量PCR验证(RT-qPCR),探讨其对柔毛淫羊藿生长发育的影响,为下一步研究明确 $EpMYB$ 基因在柔毛淫羊藿生长发育中的分子作用机制提供参考。

1 材料与仪器

1.1 材料

材料来自于河南中医药大学药用植物园,由河南中医药大学药学院董诚明教授鉴定为小檗科淫羊藿属植物柔毛淫羊藿 *E. pubescens* Maxim.。

1.2 主要仪器

QuantStudio5 实时荧光定量 PCR 仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)、411C-1 型多酚多糖植物总 RNA 提取试剂盒(北京庄盟国际生物基因科技有限公司)、HiScript® RT SuperMix for qPCR III (gDNA wiper) 试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)、PowerTrack™ SYBR Green Master Mix 试剂盒(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)。

2 方法

2.1 不同光质样品处理及采集

取用柔毛淫羊藿幼苗,在培养箱中进行光质培养,使用塑料小花盆栽培柔毛淫羊藿幼苗,温度25 °C、湿度45%、光强20 000 lx,分别设白光(W)、红光(R)、黄光(Y)、蓝光(B)共4组,在第6天采集不同处理组下的柔毛淫羊藿叶片,将其存放于-80 °C冰箱,用于测定柔毛淫羊藿在不同光质处理下 $EpMYB$ 基因的表达量。

2.2 柔毛淫羊藿 $EpMYB$ 基因家族成员及理化性质分析

柔毛淫羊藿的全基因组数据从国家生物信息中心下载(<https://ngdc.cncb.ac.cn/>),项目编号为PRJCA006303,登录号为GWHECS00000000。拟南芥 $AtMYB$ 蛋白序列数据集来自tair数据库(<https://www.arabidopsis.org/>)。利用TBtools进行柔毛淫羊藿和拟南芥的双向blast筛选柔毛淫羊藿中

的 MYB 蛋白序列,然后通过Pfam数据库(<http://pfamlegacy.xfam.org/>)利用隐马尔可夫模型(hidden markov model, HMM)对柔毛淫羊藿基因组中的 MYB 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,最后去除2种方法中的重复转录本后获取 $EpMYB$ 蛋白序列。使用TBtools软件的Protein Paramter Calc工具对柔毛淫羊藿 $EpMYB$ 蛋白理化性质进行预测。

2.3 柔毛淫羊藿 $EpMYB$ 基因家族系统进化分析

利用TBtools软件One Step Build a ML Tree工具对柔毛淫羊藿 $EpMYB$ 蛋白序列和拟南芥 $AtMYB$ 蛋白序列进行比对,搜索重复值设置为5 000,采用ML构建发育树,并利用iTOL(<https://itol.embl.de/>)在线工具对系统发育树进一步美化。

2.4 柔毛淫羊藿 $EpMYB$ 基因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://meme-suite.org/meme/>)对 $EpMYB$ 蛋白保守基序进行预测,具体参数: any number of Repetitions (anr), maximum number of Motifs=10, minimum width \geqslant 6, maximum width \leqslant 50。使用NCBI中CDD在线网站(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd>)对 $EpMYB$ 蛋白结构域进行预测。通过TBtools软件使用基因组序列和结构注释文件分别提取各个柔毛淫羊藿 $EpMYB$ 基因上游各2 000 bp序列作为启动子区域,然后通过Plant Care数据库(<https://www.plantcare.co.uk/>)对启动子区的顺式作用元件进行预测,最后使用TBtools软件将蛋白保守基序、保守结构域、启动子预测结果和其系统进化树整合及可视化作图。

2.5 柔毛淫羊藿 $EpMYB$ 基因染色体定位和种内及种间共线性分析

使用TBtools软件分析柔毛淫羊藿的基因组注释文件,提取每个 $EpMYB$ 基因在染色体上的位置信息并进行可视化绘制。利用TBtools软件获得柔毛淫羊藿染色体ID及长度信息,使用TBtools插件One Step MCScanX-Super Fast得到柔毛淫羊藿 $EpMYB$ 基因之间的共线性文件,并在Advanced Circos工具中将 $EpMYB$ 基因的种内共线性关系可视化。从NCBI网站下载水稻及拟南芥全基因组数据,使用TBtools将柔毛淫羊藿与水稻、拟南芥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。

2.6 柔毛淫羊藿 *EpMYB* 基因表达模式分析及实时荧光定量 RT-qPCR 验证

对柔毛淫羊藿植株进行不同光质照射处理, 选取 FPKM 值差异较大的 *EpMYB* 基因进行荧光定量 RT-qPCR 验证, 分析其在不同光质下柔毛淫羊藿叶片中的基因表达量变化趋势。荧光定量反应体系 20

μL: dd H₂O 7 μL; PowerTrack™ SYBR Green Master Mix 10 μL; 上、下游引物各 1 μL; cDNA 1 μL。反应程序: 95 °C 预变性 10 min, 95 °C 变性 10 s, 60 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 32 s, 45 个循环数。内参基因为 *EpActin*, 引物序列信息见表 1。每个样品做 3 个生物学重复。

表 1 *EpMYB* 基因引物序列
Table 1 Primer sequences of *EpMYB* genes

基因	正向 (5'-3')	反向 (5'-3')
<i>EpMYB4</i>	GAGCTGCAGGTTGAGATGGT	TCTTCCCGCAATCAGTGACC
<i>EpMYB8</i>	CGAGTTGGAACCAGAAGATCCA	TCGTTGTTACCACCTGAGCC
<i>EpMYB12</i>	GAGCTGCAGGTTGAGATGGT	GACCAAGAAGTCTTCCCGCA
<i>EpMYB16</i>	GAGCTGCAGGTTGAGATGGT	TCTTCCCGCAATCAGTGACC
<i>EpMYB22</i>	TGGCGTAAGGAAAGGTGCTT	AGTGGGACTTGTGCGCCAATT
<i>EpMYB23</i>	GGCGAGAAGTCCCCTGAAA	GGACCATCTGTTGCCAAGA
<i>EpMYB24</i>	ACGCTCGAACACAAGCAGTA	GAACTAACGCCACTGCAAGG
<i>EpMYB25</i>	CTGGCAGACTCTGGGAAGG	AGGTCCGAGGATGTGGCTTA
<i>EpMYB26</i>	TCGCGGACGATGAAAGTTGAT	CTTCCCGGAAGTCTACCAGC
<i>EpMYB27</i>	GAGCTGCAGGTTGAGATGGT	TCTTCCCGCAATCAGTGACC
<i>EpMYB28</i>	ACCAAACATGGTGCACCTCCT	AGTGGGACTTGTGCGCCAATT
<i>EpMYB29</i>	ATGGTGCACCTCTTGGCAT	AGTGGGACTTGTGCGCCAATT
<i>EpMYB30</i>	CAACCGTACAACCTGGAGGG	ATGCCCTCCACCATTCTGG
<i>EpMYB32</i>	TGGTGTAGAAAGGGCGCAT	ACCATCTCAACCTGCAGCTC
<i>EpMYB36</i>	GAGCTGCAGGTTGAGATGGT	GACCAAGAAGTCTTCCCGCA
<i>EpMYB37</i>	AGCAGAACATGGATAGGGC	TGCTCGTGACTGAGACATT
<i>EpMYB38</i>	TGGCGTAAGGAAAGGTGCTT	TCAACTTCATCGGCCGTGAA
<i>EpMYB48</i>	TCTTGGGCAACAGATGGTCC	GTGAAGGTCCGAGGATGTGG
<i>EpMYB53</i>	GAACACCCAGCTGAGACACA	AAGCAGGTTCCCCAGTTAGC
<i>EpMYB54</i>	GTCGACGACCAAGCTTACGA	AACTGGGCCATAGTTGCGAA
<i>EpMYB57</i>	TTCCGGTGCTCCAATGTTGA	AACATCCTGGGCTCGATGG
<i>EpMYB58</i>	GAGCAGCAGGTTGAGATGGT	GACCAAGAAGTCTTCCCGCA
<i>EpMYB74</i>	AGGAGCTGGACTATCGAGGA	AGGAGCTTGACTATCGAGGA
<i>EpMYB86</i>	AGAATACCACAAACGGGCAGG	TCTTCCCGCAATCAGTGACC
<i>EpActin</i>	TACGAACAGGAGCTGGAGACTT	GATGGTCCAGACTCGTCATACTC

2.7 数据处理

利用 Microsoft®Excel 2021 软件统计实时荧光定量 RT-qPCR 数据, 通过 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 算法计算基因相对表达量, IBM SPSS Statistics 26 软件进行独立样本 *t* 检验和单因素方差分析, GraphPad 9.5 绘制柱状图。

3 结果与分析

3.1 柔毛淫羊藿 *EpMYB* 家族成员及理化性质分析

通过对柔毛淫羊藿和拟南芥的双向 blast 和 Pfam 数据库中 PF00249 domain 信息结构域 HMM

模型筛选, 去除冗余, 从柔毛淫羊藿全基因组中共鉴定到 87 个 MYB 转录因子, 分别命名为 *EpMYB1*~*EpMYB87*。使用 TBtools 对柔毛淫羊藿 *EpMYB* 蛋白理化性质进行预测, 结果表明 (表 2), *EpMYB52* 蛋白编码氨基酸最多, 为 561 个, *EpMYB64* 蛋白编码氨基酸最少, 为 150 个, 相对分子质量分布区域为 17 857.76~61 369.56。*EpMYB73*、*EpMYB64*、*EpMYB81* 等 35 个蛋白等电点大于 7.00, 其余 52 个蛋白等电点均小于 7.00, *EpMYB81* 与 *EpMYB38* 蛋白为等电点 7.00 分界线, 所有蛋白亲水性系数均小于零, 说明该家族蛋白大

表2 柔毛淫羊藿EpMYB蛋白理化性质分析

Table 2 Analysis of physical and chemical properties of EpMYB proteins from *Epimedium pubescens*

序号	氨基酸数目	相对分子质量	等电点	不稳定系数	脂肪系数	亲水平均系数
EpMYB1	248	28 197.32	4.81	52.09	67.26	-0.722
EpMYB2	248	28 197.32	4.81	52.09	67.26	-0.722
EpMYB3	299	34 247.54	6.04	52.66	64.21	-0.771
EpMYB4	318	35 132.33	6.15	60.71	57.42	-0.666
EpMYB5	296	33 190.29	6.20	46.92	69.93	-0.585
EpMYB6	332	38 064.59	5.80	50.70	76.96	-0.676
EpMYB7	361	41 484.03	5.35	52.57	68.06	-0.803
EpMYB8	388	42 899.60	5.87	54.86	61.83	-0.790
EpMYB9	336	37 315.89	6.49	43.19	72.02	-0.553
EpMYB10	349	39 613.27	5.41	52.58	65.64	-0.589
EpMYB11	259	29 697.15	5.49	63.48	64.75	-0.699
EpMYB12	313	35 034.31	6.64	51.10	62.59	-0.752
EpMYB13	314	35 873.96	5.37	61.34	68.31	-0.621
EpMYB14	372	42 254.73	4.80	59.42	64.73	-0.607
EpMYB15	349	39 759.36	5.33	55.11	65.07	-0.611
EpMYB16	327	36 196.44	5.77	54.24	63.64	-0.609
EpMYB17	280	32 094.24	5.02	62.71	67.93	-0.753
EpMYB18	250	28 955.59	5.72	61.89	64.36	-0.759
EpMYB19	366	41 563.33	5.51	57.43	65.52	-0.707
EpMYB20	323	36 392.25	6.08	50.85	63.16	-0.894
EpMYB21	292	33 626.55	5.95	49.96	62.74	-0.740
EpMYB22	328	37 711.44	5.55	51.38	57.10	-1.054
EpMYB23	285	32 701.44	6.40	58.57	64.35	-0.913
EpMYB24	340	38 992.82	5.05	53.03	66.26	-0.893
EpMYB25	355	40 720.74	5.09	56.91	66.23	-0.914
EpMYB26	317	36 372.09	5.15	52.00	65.84	-0.880
EpMYB27	378	43 411.45	4.97	52.65	66.06	-0.904
EpMYB28	340	39 027.96	5.16	54.67	67.41	-0.868
EpMYB29	340	38 859.70	5.21	53.30	67.12	-0.891
EpMYB30	363	41 774.89	4.97	52.91	67.69	-0.887
EpMYB31	240	27 659.25	6.47	60.84	70.21	-0.823
EpMYB32	289	32 774.80	5.42	51.07	66.40	-0.637
EpMYB33	353	40 051.86	5.96	59.86	68.56	-0.776
EpMYB34	346	38 655.38	5.43	62.97	65.43	-0.616
EpMYB35	221	25 179.59	8.65	39.83	74.21	-0.719
EpMYB36	270	30 802.39	6.31	57.33	64.22	-0.784
EpMYB37	170	19 777.08	9.52	51.44	58.00	-1.131
EpMYB38	411	46 620.97	6.97	65.44	43.50	-1.036
EpMYB39	207	24 216.87	6.41	54.06	55.60	-1.129
EpMYB40	261	30 233.61	5.92	44.33	61.99	-0.757
EpMYB41	490	53 771.20	6.09	53.59	60.73	-0.757
EpMYB42	490	53 785.23	6.09	53.67	60.73	-0.757
EpMYB43	283	31 776.19	7.22	43.13	61.41	-0.710
EpMYB44	283	31 776.19	7.22	43.13	61.41	-0.710

表 2 (续)

序号	氨基酸数目	相对分子质量	等电点	不稳定系数	脂肪系数	亲水平均系数
EpMYB45	269	30 799.99	5.58	46.26	65.28	-0.746
EpMYB46	269	30 815.05	5.58	44.27	66.36	-0.729
EpMYB47	244	28 152.83	7.57	57.76	67.87	-0.867
EpMYB48	248	28 570.49	9.15	64.43	51.17	-1.000
EpMYB49	196	22 205.94	8.84	53.16	56.79	-0.566
EpMYB50	257	29 372.55	10.14	60.92	74.05	-0.493
EpMYB51	174	20 258.83	8.16	63.59	63.91	-0.654
EpMYB52	561	61 369.56	5.16	64.33	64.90	-0.525
EpMYB53	467	51 313.89	4.62	53.23	71.41	-0.553
EpMYB54	325	36 112.20	5.32	52.80	80.80	-0.566
EpMYB55	279	31 618.65	7.10	52.31	66.06	-0.766
EpMYB56	251	28 919.11	6.25	54.50	64.54	-0.749
EpMYB57	254	29 105.40	6.60	52.35	63.39	-0.709
EpMYB58	521	57 775.84	5.34	52.34	64.72	-0.721
EpMYB59	508	56 019.19	8.73	52.74	68.80	-0.591
EpMYB60	505	56 125.45	4.81	66.11	70.85	-0.603
EpMYB61	365	41 279.95	6.42	44.39	71.34	-0.747
EpMYB62	248	29 099.23	8.99	54.61	76.94	-0.706
EpMYB63	249	29 116.14	9.14	54.93	76.22	-0.722
EpMYB64	150	17 857.76	10.75	48.78	80.53	-0.838
EpMYB65	249	29 294.41	8.90	55.98	78.19	-0.724
EpMYB66	249	29 184.28	9.10	55.44	78.19	-0.698
EpMYB67	264	30 732.07	9.18	54.65	78.18	-0.676
EpMYB68	246	28 874.69	8.69	44.05	67.76	-0.756
EpMYB69	241	28 176.09	8.77	56.63	76.76	-0.718
EpMYB70	237	27 842.84	8.97	38.42	72.36	-0.749
EpMYB71	235	26 973.85	8.15	34.89	73.87	-0.676
EpMYB72	230	27 238.65	10.13	48.35	77.52	-0.782
EpMYB73	230	27 039.98	9.12	37.39	77.96	-0.688
EpMYB74	236	27 940.76	8.29	38.54	70.97	-0.794
EpMYB75	236	27 820.76	9.21	35.87	66.02	-0.830
EpMYB76	163	19 206.58	10.26	42.65	85.52	-0.706
EpMYB77	247	29 046.11	8.60	37.79	74.94	-0.723
EpMYB78	236	27 927.67	8.84	41.17	72.25	-0.813
EpMYB79	211	24 699.06	8.99	35.53	66.97	-0.730
EpMYB80	226	26 662.53	8.33	57.37	82.74	-0.610
EpMYB81	337	38 469.35	7.07	51.71	68.90	-0.805
EpMYB82	320	36 319.87	5.40	49.22	68.88	-0.742
EpMYB83	497	56 499.89	5.62	49.74	68.07	-0.702
EpMYB84	441	48 524.07	8.14	53.17	68.82	-0.628
EpMYB85	457	51 011.08	6.03	48.43	65.71	-0.644
EpMYB86	311	34 379.41	8.33	51.31	69.61	-0.649
EpMYB87	361	41 628.62	9.44	67.42	65.98	-0.957

多数为酸性亲水蛋白。同时,EpMYB35、EpMYB74、EpMYB70、EpMYB77、EpMYB73、EpMYB75、EpMYB79、EpMYB71 等 8 个 EpMYB 蛋白不稳定系数小于 40, 其余 EpMYB 蛋白不稳定系数均大于 40, 表明该家族蛋白大多数为不稳定蛋白。

3.2 柔毛淫羊藿 *EpMYB* 基因家族系统进化分析

采用 ML 法构建系统发育树, 结果如图 1 所示, 根据蛋白结构将 *MYB* 基因家族其分为 4 个亚家族, 随后对 R2R3-MYB 结构域的基因家族进行分类, 共分成 22 个亚家族 (S1~S22), 柔毛淫羊藿 *EpMYB* 基因分布在 R2R3-MYB 结构域的亚家族中,

在对拟南芥 MYB 研究过程中, 得到 *AtMYB11*、*AtMYB12*、*AtMYB111* 基因与查耳酮合成酶、查尔酮异构酶合成有关, *AtMYB4*、*AtMYB3*、*AtMYB32*、*AtMYB7*、与 4-香豆酰辅酶 A 合成花青素苷途径有关; 同时 *AtMYB75*、*AtMYB90*、*AtMYB113*、*AtMYB114*、*AtMYB123*、*AtMYB5* 等酶与二氢黄酮醇合成其他黄酮类物质有关。通过 ML 系统发育树将柔毛淫羊藿 *EpMYB* 基因家族与拟南芥 *AtMYB* 基因家族进行整理, 发现有 24 个 *EpMYB* 基因与拟南芥参与黄酮类合成的 *AtMYB* 基因同源。随后对 24 个 *EpMYB* 基因进行 RT-qPCR 表达特征分析。

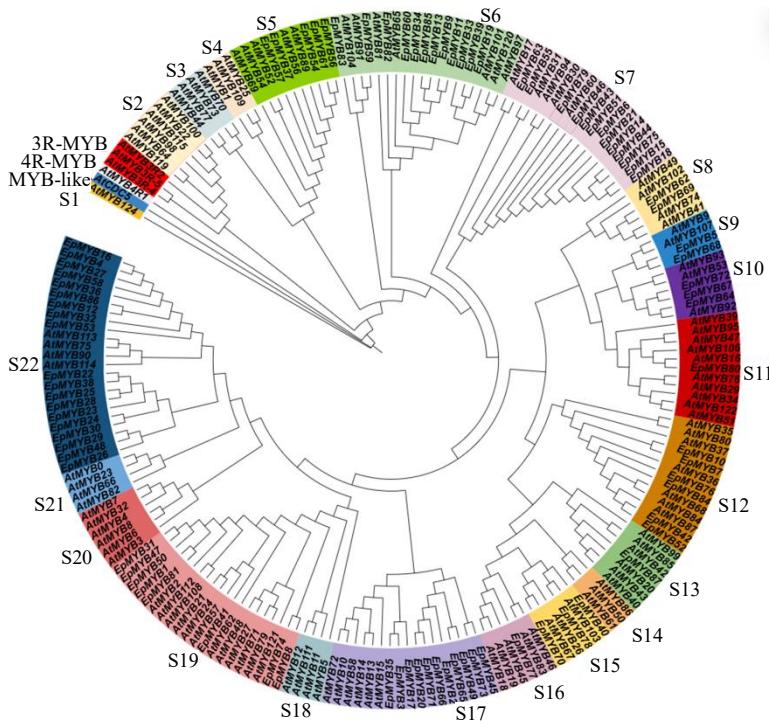


图 1 柔毛淫羊藿与拟南芥 MYB 蛋白系统进化树

Fig. 1 Phylogenetic tree of MYB proteins from *E. pubescens* and *Arabidopsis thaliana*

3.3 柔毛淫羊藿 MYB 转录因子保守基序和基因结构分析及顺式作用元件预测

为了解析柔毛淫羊藿 MYB 转录因子结构多样性和进化关系, 结果如图 2 所示, EpMYB 蛋白由 1~10 个 Motifs 组成 (图 3 为 Motifs 氨基酸分布情况), 87 个转录因子均含有相似结构域 (Motif1/2/4), 说明表明这 3 个基序在 EpMYB 蛋白序列中分布最广、保守程度最高, 也从侧面佐证了筛选出的 87 个 MYB 转录因子均属于 *MYB* 基因家族成员。EpMYB 蛋白仅有部分含有 Motif 8 和 Motif 10, 并且除去 EpMYB 54、EpMYB 56、EpMYB 51 不含 Motif 3 和部分 EpMYB 不含 Motif 7/9 其余皆

含有 Motif 7/9 和 3。这些 EpMYB 蛋白从保守基序组成不同从而被聚在不同亚家族，可能与不同亚家族功能不同相关。从中筛选的 87 个 *EpMYB* 基因结构，发现所有 *EpMYB* 基因 UTR 数量为 1~3 个，同时 *EpMYB* 外显子、内含子和 CDS 数差异明显，在随着柔毛淫羊藿系统进化过程中，不同的 *EpMYB* 基因因自身不同的功能机制差异逐渐被分化出来，以适应新的环境变化，行使新的蛋白功能。保守结构域结果如图 2 所示，所有 EpMYB 蛋白均含有 PLN03212 或 PLN03091 保守结构域，说明 PLN03212 和 PLN03091 是 EpMYB 蛋白组成中最核心的保守结构域。

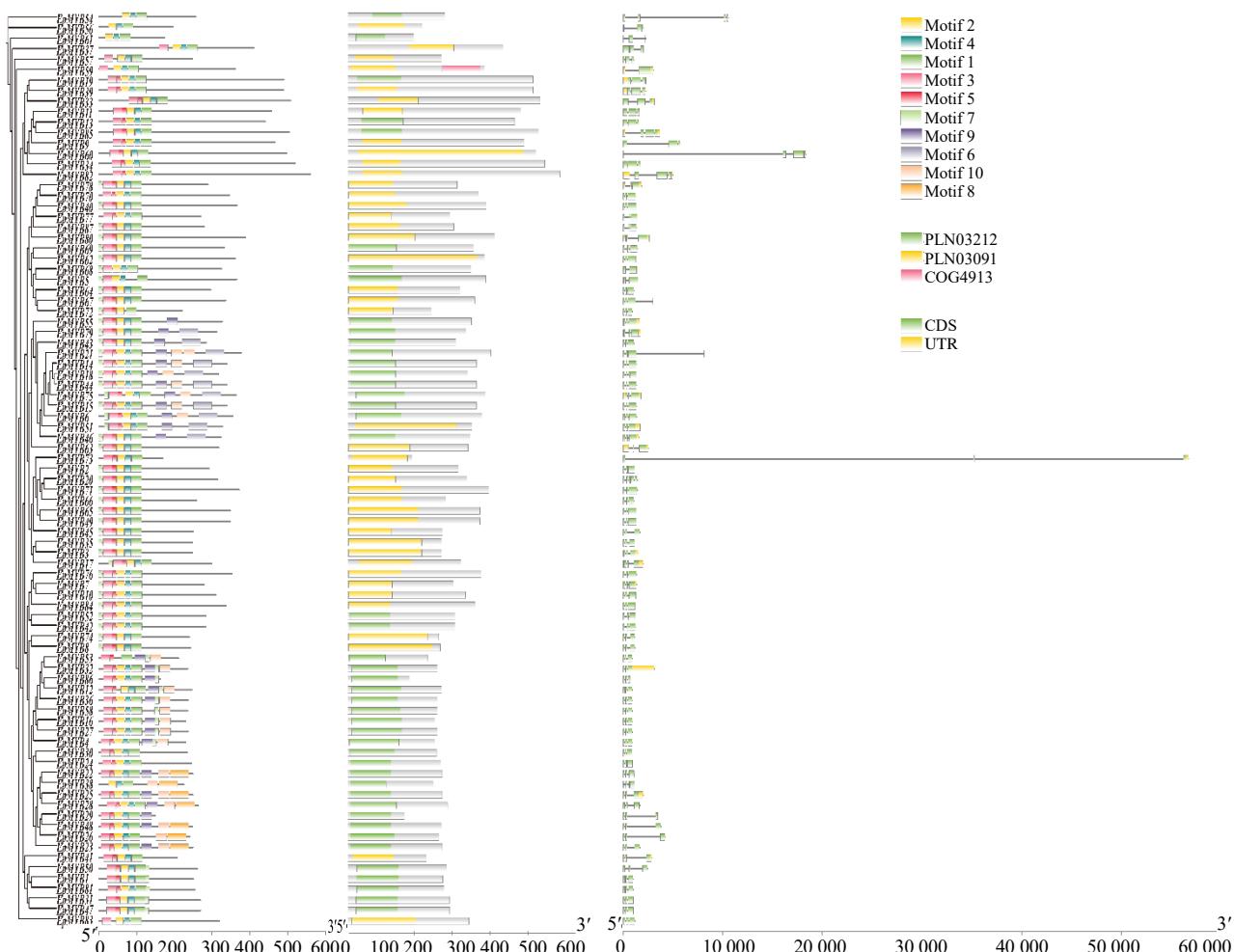


图 2 MYB 转录因子保守基序、保守结构域分析和基因结构分析

Fig. 2 Analysis of conserved motifs, analysis of conserved domain and gene structures of MYB transcription factors

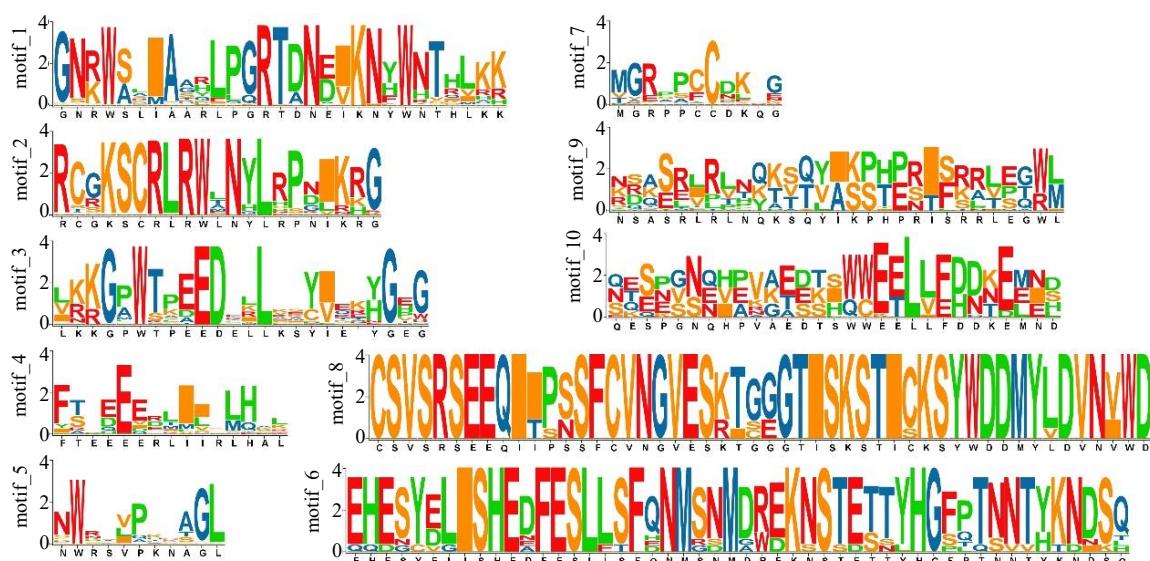


图 3 Motifs 氨基酸分布情况

Fig. 3 Motifs amino acid distribution

启动子预测结果显示(图 4), MYB 转录因子参与了 4 个非生物胁迫过程, 图 4 中 MYB 转录因子共包括 1243 个顺式元件, 包括生长素响应元件、光响应元件、赤霉素响应元件、茉莉酸甲酯等响应元件。每个 *EpMYB* 启动子中均包含大量的光响应性元件, 占所有顺式元件的 68.44%, 其数量远远超过其他响应元件, 其次是茉莉酸甲酯响应元件, 占所有顺式元件的

18.68%, 生长素响应元件中占比最少, 仅为 6.20%, 有部分响应元件为 MYB 转录因子结合元件, 说明 *EpMYB* 和 MYB 转录因子能相互结合从而行使不同的蛋白功能。此外, 由于含有光、茉莉酸甲酯、赤霉素和水杨酸响应元件的 *EpMYB* 基因构成了这些基因的整体, 推测这些基因可能在响应这些胁迫方面发挥重要作用, 可以作为未来验证这些基因功能的理论基础。

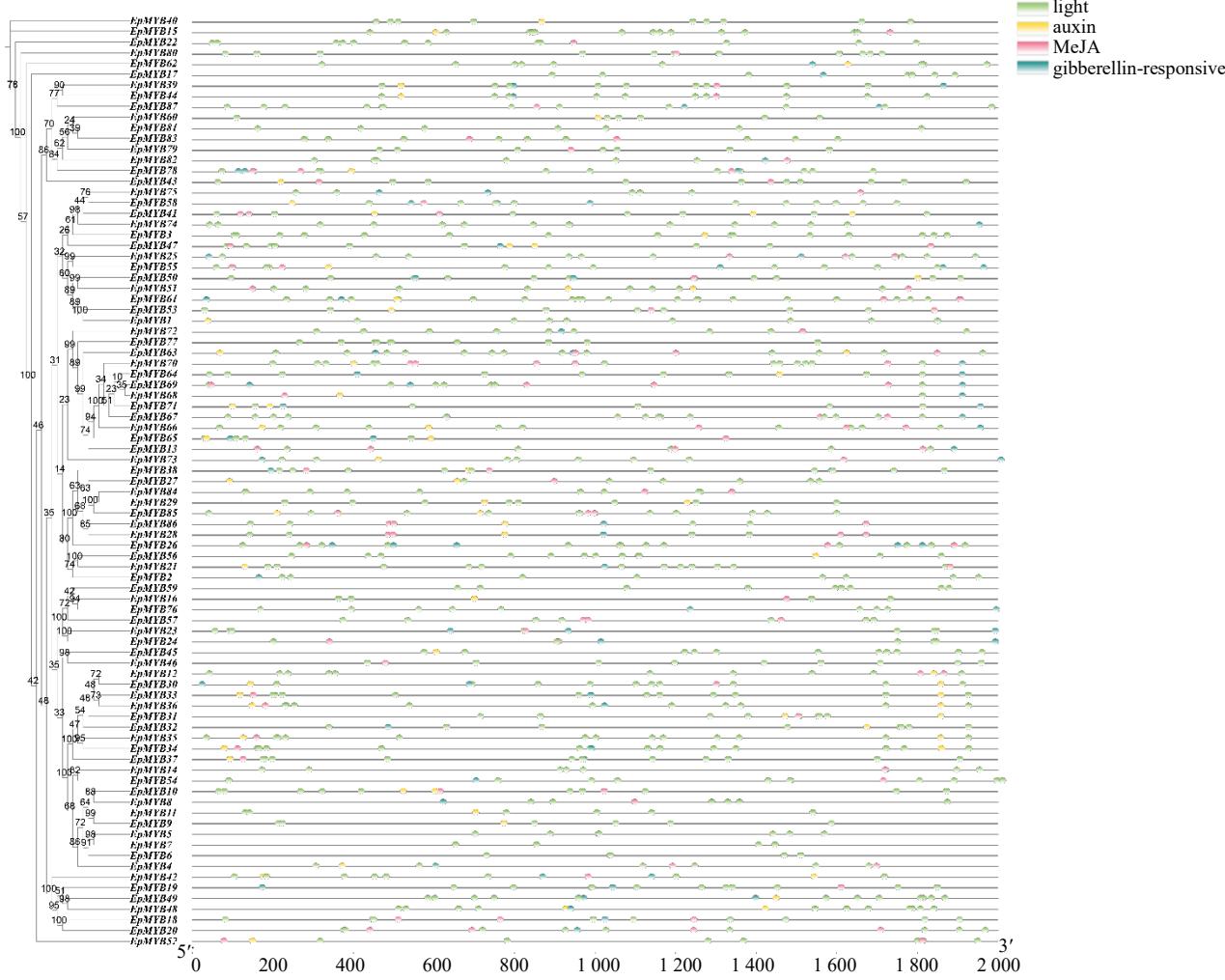


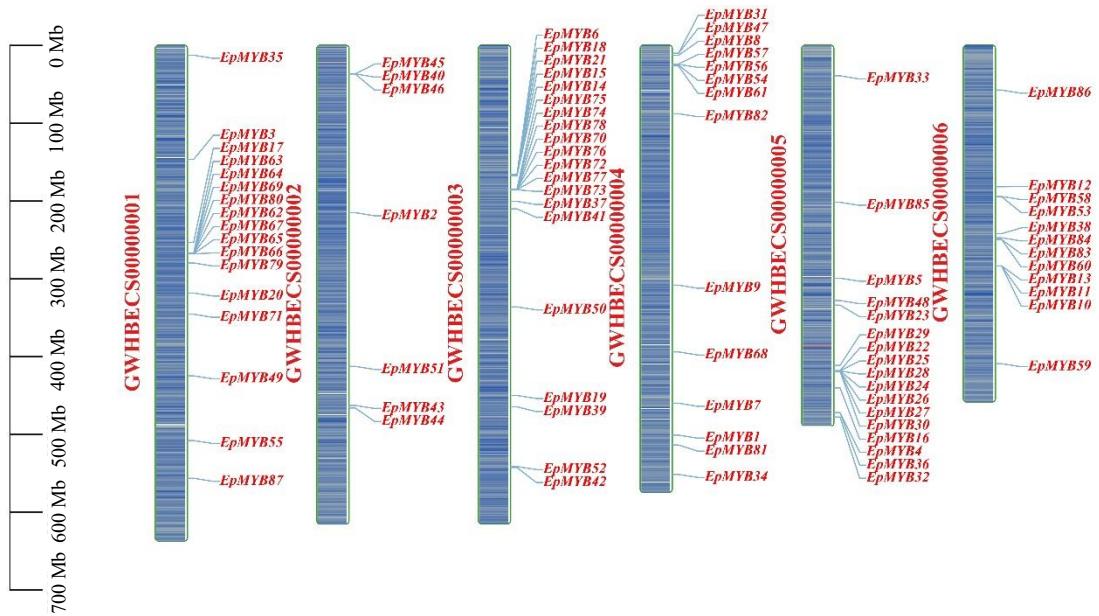
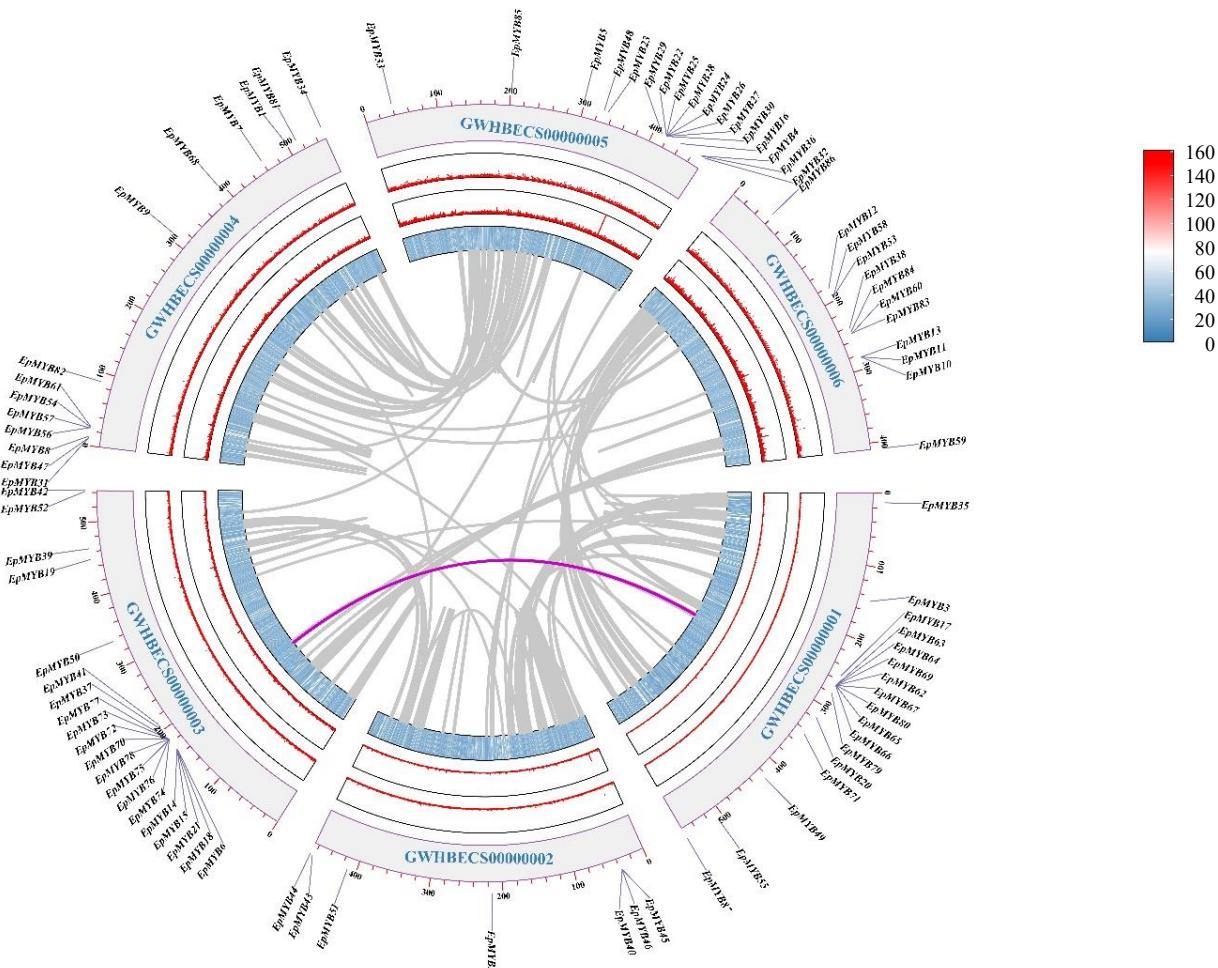
图 4 MYB 转录因子顺式作用元件预测

Fig. 4 Elements of *MYB* transcription factors and prediction of cis-acting elements

3.4 柔毛淫羊藿 *EpMYB* 基因染色体定位和拟南芥及水稻及种间共线性分析

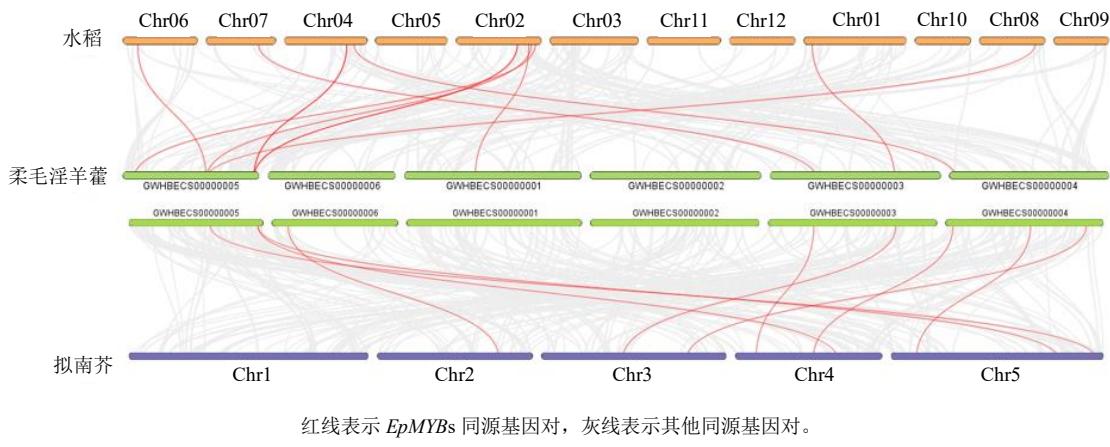
根据柔毛淫羊藿基因组数据对 *EpMYB* 基因家族成员进行染色体定位分析(图 5), 可以看出 87 条 *EpMYB* 基因均匀分布在 6 条染色体上, 通过比对拟南芥的 *MYB* 转录因子, 挑选出与黄酮类合成可能有关的 24 条 *EpMYB* 基因, 发现所挑选的 24 个 *EpMYB* 基因不均匀的分布在 4 条染色体上, 另外 2 条染色体上没有所挑选的 *EpMYB* 基因, GWBECS00000005

染色体上分布的 *EpMYB* 基因最多为 14 个, 其余染色体多分布为 2~5 个, 多数 *EpMYB* 基因分布在染色体两端, *EpMYB57*、*EpMYB56*、*EpMYB54* 和 *EpMYB61* 彼此在染色体上距离最近; *EpMYB22*、*EpMYB25*、*EpMYB28*、*EpMYB24*、*EpMYB27*、*EpMYB26* 和 *EpMYB30* 彼此在染色体上距离最近。但是整个 *MYB* 基因家族在染色体上并无基因簇。为检测柔毛淫羊藿中 *EpMYB* 中的基因重复事件, 使用 TBtools 软件进行种内共线性分析(图 6)。基于 Circos 图发现仅存

图 5 *EpMYBs* 基因的染色体定位Fig. 5 Chromosomal location of *EpMYBs* gene family图 6 *EpMYBs* 基因种内共线性分析Fig. 6 Intraspecific collinearity analysis of *EpMYBs* genes

在单对共线性基因 (*EpMYB62* 和 *EpMYB74*), 为了各对共线性基因位于不同的染色体上, 属于片段复制事件, 预测其可能具有相似的功能和调控机制。深入探究柔毛淫羊藿与其他物种 *MYB* 基因间的关系, 本研究使用 One StEp MC ScanX 工具进行模式植物拟南芥和水稻的种间共线性分析, 结果 (图 7) 显示, 柔毛淫羊藿和拟南芥共有 9 对共线性基因、和水稻也共有 9 对共线性基因。在生物进化过程中有一些共同的同

源基因在不同物种中被保留下来, 维持了共线性, 反映了基因的保守性^[15]。这表明 *EpMYB* 基因维持着生物体的重要功能, 因此被保留。拟南芥、水稻和柔毛淫羊藿 *MYB* 基因的共线性分析表明基因家族成员在进化过程中发生了保留和复制现象, 基因复制情况的发生不断壮大 *MYB* 基因家族成员, 促进 *MYB* 基因家族功能多样化, 利于柔毛淫羊藿在生长发育及次生代谢形成中应对各种胁迫。



红线表示 *EpMYBs* 同源基因对, 灰线表示其他同源基因对。

The red lines represent *EpMYBs* homologous gene pairs, and the gray lines represent other homologous gene pairs.

图 7 *EpMYBs* 基因在拟南芥及水稻种间共线性分析

Fig. 7 Interspecific collinearity analysis of *EpMYBs* genes between *A. thaliana* and *Oryza sativa*

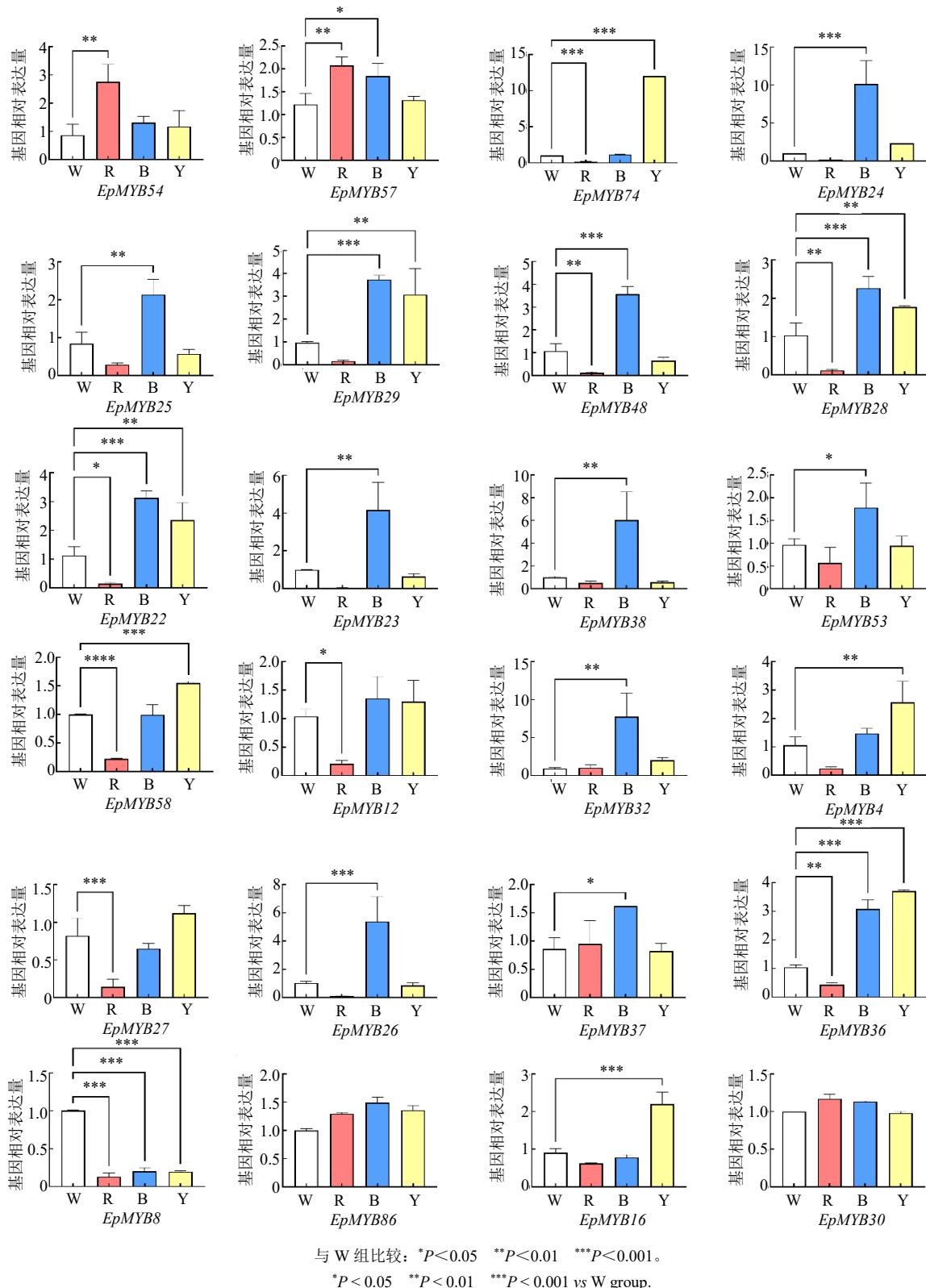
3.5 柔毛淫羊藿 *EpMYB* 基因表达量结果分析

从 87 个 *EpMYB* 基因中筛选出与黄酮类合成的 24 个基因, 选取 FPKM 值差异较大的 *EpMYB* 基因进行荧光定量 RT-qPCR 验证, 分析其在不同光质下柔毛淫羊藿叶片中的基因表达量表达量变化趋势。在不同光质胁迫下, 柔毛淫羊藿中 2 个基因 *EpMYB* 基因表达具有明显差异, 在红光光质影响下, *EpMYB54* 与 *EpMYB57* 表达量与对照组具有显著性差异 ($P < 0.001$), 基因非常显著上调, 说明红光诱导有利于其表达; *EpMYB8*、*EpMYB22*、*EpMYB36*、*EpMYB48*、*EpMYB58*、*EpMYB12*、*EpMYB27* 共 7 个基因表达量与对照组具有显著性差异 ($P < 0.001$), 基因非常显著下调, 说明红光诱导并不利于其表达; 在蓝光光质影响下, *EpMYB37*、*EpMYB57*、*EpMYB24*、*EpMYB53* 共 4 个基因表达量与对照组具有显著性差异 ($P < 0.05$), 基因显著上调; *EpMYB36*、*EpMYB28*、*EpMYB22*、*EpMYB25*、*EpMYB29*、*EpMYB48*、*EpMYB23*、*EpMYB38*、*EpMYB32*、*EpMYB26* 共 10 个基因表达量与对照组具有显著性差异 ($P < 0.001$), 基因极显著上调, 说明蓝光诱导有利于其表达; 在黄光光质影响下,

EpMYB27 基因表达量与对照组具有显著性差异 ($P < 0.05$), 基因显著上调; *EpMYB36*、*EpMYB28*、*EpMYB22*、*EpMYB74*、*EpMYB58*、*EpMYB4d* 等 6 个基因表达量与对照组具有显著性差异 ($P < 0.001$), 基因非常显著上调, 说明黄光诱导有利于其表达; 在不同光质影响下, 仍有一些基因未出现明显差异, *EpMYB86*、*EpMYB30* 等 2 个基因在不同光质条件下其相对表达量变化无明显差异, 这说明其基因表达不受光质影响。综上, 从光质对柔毛淫羊藿影响可以得出, 在 *EpMYB* 基因家族内, 黄蓝 2 种光质对 *EpMYB* 基因表达量上调要远高于红光, 说明蓝黄光诱导更有利于柔毛淫羊藿中 *EpMYB* 基因表达, 黄蓝光中以蓝光诱导为最。蓝光显著上调 *EpMYB25* 等 14 个 *EpMYB* 基因的表达, 黄光显著上调 *EpMYB16* 等 7 个 *EpMYB* 基因的表达, 红光处理下仅 *EpMYB54* 基因与 *EpMYB57* 基因显著上调。

4 讨论

柔毛淫羊藿是一种以黄酮类化合物为主要活性物质的药用植物, 有研究者表明, 柔毛淫羊藿在特定光强下, 红蓝比例 1:1 处理更有利于柔毛淫羊藿的生长, LED 白光补充红光处理有利于柔毛淫

图 8 *EpMYBs* 基因在不同光质条件下的表达模式Fig. 8 Expression pattern of *EpMYBs* genes under different light quality conditions

羊藿光合作用和黄酮类含量的积累^[16]。但是对其次生代谢产物合成的分子机制并未详细研究。光强

和光质作为信号因子直接作用影响植株的形态建成^[17]。但至今为止, MYB 转录因子如何影响柔毛

淫羊藿生长发育及次生代谢产物合成的过程研究仍然空缺, 同时对于光调控下柔毛淫羊藿生长发育及次生代谢合成相关机制的认识仍然有限。

随着对不同物种 MYB 转录因子的研究过程中发现, 在拟南芥中黄酮醇的合成由特定 MYB 亚家族精细调控。AtMYB11、AtMYB12 和 AtMYB111 通过直接激活 FLS 基因表达, 促进黄酮醇在叶片和种子中的积累^[18]; ABA 处理银杏叶可通过激活 *GbMYB* 等基因, 上调 PAL、CHS 等酶活性, 使总黄酮含量提升 3 倍以上^[19]。MYB 转录因子通过多层次、多维度的调控网络, 精准控制不同黄酮类成分的合成路径。从结构基因的直接激活到 MBW 复合体的协同作用, 从胁迫响应的快速调控到进化过程中的功能分化, *MYB* 基因家族展现了高度的功能多样性。在柔毛淫羊藿研究过程中有研究对柔毛淫羊藿 *UGT* 基因家族进行解析, 对柔毛淫羊藿 *UGT79* 家族基因功能进行了探索, 鉴定了 3 个来自 *UGT79* 家族的基因功能^[20]; 茶树在高光胁迫下, 组蛋白修饰 (如 H3K27ac 和 H3K27me3) 动态调控气孔发育基因 *CsEPFL9* 和次生代谢酶基因 *CsF3'Hb*、*CsCHSc* 的表达, 导致类黄酮和生物碱含量变化^[21], 银红李中光受体 (CRYs、PHYs、UVR8) 通过调控 *HY5* 及 *BBX* 家族基因 (如 *BBX24*、*BBX31*) 影响酚类合成的分子机制^[22]。在对柔毛淫羊藿 *MYB* 基因家族研究中仍有不足, 本研究通过不同光质处理柔毛淫羊藿植株, 并对可能参与黄酮类合成 24 个 *EpMYB* 基因测定其表达量, 得出在 *EpMYB* 基因家族中, 黄光和蓝光对 *EpMYB* 基因表达量上调要远高于红光光质, 黄光和蓝光中以蓝光诱导为最。蓝光显著上调 *EpMYB25* 等 12 个 *EpMYB* 基因的表达, 黄光显著上调 *EpMYB16* 等 6 个 *EpMYB* 基因的表达, 红光处理下仅 *EpMYB54* 基因与 *EpMYB57* 基因显著上调。

综上, 本研究从全基因组层面对柔毛淫羊藿 *MYB* 基因家族进行了全面的生物信息学分析, 共鉴定出 87 个 *EpMYB* 基因 (*EpMYB1*~*EpMYB87*), 分为 13 个亚家族, 编码的氨基酸长度在 150~561 aa, 蛋白质相对分子质量为 17 857.76~61 369.56, 等电点介于 4.62~10.75。所有 *EpMYB* 基因均含有相似保守结构域。表达模式分析显示 *EpMYB* 基因在不同光质条件表达模式特征有所不同。但具体的 *EpMYB* 基因功能、*MYB* 转录因子与基因是否可以互作等研究有待加深, 本研究为深入探索柔毛淫羊

藿 *EpMYB* 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

- 中国药典. [S]. 一部. 2020: 340.
- 罗露, 袁志鹰, 黄惠勇, 等. 淫羊藿化学成分及药理研究进展 [J]. 亚太传统医药, 2019, 15(6): 190-194.
- Li H W, Li Y J, Ao H, et al. A comparative study on the *in vitro* and *in vivo* antitumor efficacy of icaritin and *Hydrous* icaritin nanorods [J]. *Drug Deliv*, 2020, 27(1): 1176-1187.
- Chen H, Li Q P, Zeng Y L, et al. Effect of different shading materials on grain yield and quality of rice [J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 9992.
- Li Y, Xin G F, Wei M, et al. Carbohydrate accumulation and sucrose metabolism responses in tomato seedling leaves when subjected to different light qualities [J]. *Sci Hortic*, 2017, 225: 490-497.
- Yang L L, Zhou S W, Hou Y W, et al. Blue light induces biosynthesis of flavonoids in *Epimedium sagittatum* (Sieb. et Zucc.) Maxim. leaves, a study on a light-demanding medicinal shade herb [J]. *Ind Crops Prod*, 2022, 187: 115512.
- 胡瑜辉, 杨振宇, 宋诗娟, 等. 不同光质对黄芪抗氧化酶活性及产量和品质的影响 [J]. 山西农业科学, 2021, 49(10): 1173-1178.
- 王燕, 张亚见, 何茂盛, 等. 光质对植物形态结构和生长的影响 [J]. 安徽农业科学, 2018, 46(19): 22-25.
- 陈美香, 武礼宾, 曹立, 等. 光质对金线莲组培苗生长和主要化学成分的影响 [J]. 照明工程学报, 2016, 27(2): 112-117.
- 董慧雪, 周燕蓉, 田奇琳, 等. 不同光质对龙眼胚性愈伤组织类黄酮含量的影响 [J]. 热带作物学报, 2014, 35(12): 2374-2377.
- Mehrtens F, Kranz H, Bednarek P, et al. The *Arabidopsis* transcription factor MYB12 is a flavonol-specific regulator of phenylpropanoid biosynthesis [J]. *Plant Physiol*, 2005, 138(2): 1083-1096.
- 邓仁榆. 苦荞 SG4-MYBs 转录因子 FtMYB3 特异性抑制花青素合成的分子鉴定 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2019.
- Jiang Z Y, Liu J Y, Xu H S, et al. Molecular insights into ThMYB14-mediated flavonoid accumulation in *Tetrastigma hemsleyanum* Diels et Gilg in response to water stress [J]. *Ind Crops Prod*, 2025, 226: 120708.
- Liu S A, Zhang H Y, Meng Z L, et al. The LncNAT11-MYB11-F3'H/FLS module mediates flavonol biosynthesis to regulate salt stress tolerance in *Ginkgo biloba* [J]. *J Exp Bot*, 2025, 76(4): 1179-1201.

- [15] 马少杰, 郭海洋, 尹江, 等. 毛果杨 MYC 基因家族生物信息学及转录组表达分析 [J]. 分子植物育种, 2024, 3: 1-18.
- [16] 付佳. 光质对柔毛淫羊藿生长发育及黄酮类含量积累的初步研究 [D]. 天津: 天津农学院, 2023.
- [17] Yang F, Wang X C, Liao D P, et al. Yield response to different planting geometries in maize–soybean relay strip intercropping systems [J]. *Agron J*, 2015, 107(1): 296-304.
- [18] Li C X, Huang D, Wei R, et al. Genome-wide characterization, identification, and function analysis of candidate JsMYB genes involved in regulating flavonol biosynthesis in *Juglans sigillata* Dode [J]. *Sci Hortic*, 2023, 317: 112044.
- [19] 李婷婷, 国靖, 汪贵斌. 外源 ABA 对银杏叶黄酮类化合物体内合成的影响 [J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2023, 47(4): 88-94.
- [20] 姚宇. 柔毛淫羊藿糖基转移酶 UGT79 家族基因的克隆及功能研究 [D]. 北京: 中国医学科学院, 2023.
- [21] Zhang H, Ge Y, Hu J, et al. Integrated analyses of metabolome, leaf anatomy, epigenome, and transcriptome under different light intensities reveal dynamic regulation of histone modifications on the high light adaptation in *Camellia sinensis* [J]. *Plant J*, 2025, 121(5): e70040.
- [22] Xiong B, Wang J L, Yao J F, et al. Effects of dark treatment on 'Yinhongli' plum phenolic biosynthesis and antioxidant capacity analysed through transcriptomic and metabolomic approaches [J]. *Sci Hortic*, 2025, 349: 114233.

[责任编辑 时圣明]