

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201703035

引文格式: 丁蒙蒙, 时小东, 顾雨熹, 等. 基于转录组的楠木 MYB 转录因子的挖掘及分析 [J]. 广西植物, 2018, 38(1): 90–100
DING MM, SHI XD, GU YX, et al. Transcriptome-based excavation and analysis of MYB family transcription factors in *Phoebe zhennan* [J].
Guihaia, 2018, 38(1): 90–100

基于转录组的楠木 MYB 转录因子的挖掘及分析

丁蒙蒙¹, 时小东¹, 顾雨熹¹, 代 娇¹, 盛玉珍², 徐 莺¹, 庄国庆^{2*}

(1. 四川大学 生命科学学院, 生物资源与生态环境教育部重点实验室, 成都 610064; 2. 四川省林业科学研究院, 成都 610081)

摘 要: 楠木(*Phoebe zhennan*)为樟科常绿乔木,是国家二级重点保护树种。楠木生长缓慢,木材形成所需周期较长,其原因有待进一步深入分析。近年来转录因子已成为植物分子生物学研究的热点,高通量测序技术的应用和发展促进了转录因子的挖掘和深入分析。该研究基于我国特有濒危树种楠木的转录组数据,通过与拟南芥基因组 MYB 转录因子进行对比,对楠木 MYB 转录因子进行挖掘和生物信息学分析,并结合功能预测和不同组织表达对其进行深入分析。结果表明:从楠木转录组数据中,共挖掘出 82 个 MYB 转录因子,这 82 个 MYB 转录因子蛋白质所含氨基酸数目为 50~1 121 个、分子量为 5.907~123.64 kDa,整体表现为亲水性不稳定蛋白,以 α -螺旋和无规则卷曲为主要二级结构元件。序列比对和进化树分析表明,楠木 MYB 转录因子的结构域有高度保守性,含有 [W]-X(19)-[W]-X(19) 结构; 82 个 PzMYB 可分为 22 类,参与生长发育、次生代谢、逆境响应等过程,与功能预测分析结果相一致。同时,在楠木茎和叶中,差异表达 PzMYB 数目为 18 个,其中上调 10 个、下调 8 个。该研究结果不仅对楠木 MYB 转录因子的挖掘和功能分析以及分子生物学研究奠定了基础,而且还对其遗传改良和分子育种具有参考价值。

关键词: 楠木, 转录组, MYB 转录因子, 生物信息学, 基因表达

中图分类号: Q943.2, S792.24 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2018)01-0090-11

Transcriptome-based excavation and analysis of MYB family transcription factors in *Phoebe zhennan*

DING Mengmeng¹, SHI Xiaodong¹, GU Yuxi¹, DAI Jiao¹,
SHENG Yuzhen², XU Ying¹, ZHUANG Guoqing^{2*}

(1. Key Laboratory of Bio-Resources and Eco-Environment of Ministry of Education, College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610064, China; 2. Sichuan Academy of Forestry, Chengdu 610081, China)

Abstract: *Phoebe zhennan* is an endemic valuable tree to China and listed as one of the national second-class protected wild plants. The growth rate of *P. zhennan* is too slow and the operating cycle is too long. To date, there is no reason to

收稿日期: 2017-05-22

基金项目: 国家自然科学基金(31200504) [Supported by the National Natural Science Foundation of China (31200504)].

作者简介: 丁蒙蒙(1992-),女,河南漯河人,硕士研究生,研究方向为植物分子生物学, (E-mail) 156869932@qq.com。

*通信作者: 庄国庆,博士,副研究员,研究方向为林业分子生物学, (E-mail) guoqing_zhuang@hotmail.com。

explain this phenomenon. These years have witnessed transcription factors becoming a focus on the researches about plants molecular biology, as the high-throughput sequencing technology has been well applied and developed. In the present study, the identification and phylogenetic analysis of the *P. zhennan* MYB (PzMYB) transcription factor family was performed and the expression profiles of these genes were determined. PzMYBs were identified from the *P. zhennan* transcriptome using bioinformatics tools, and their putative functions were determined based on the phylogenetic tree and classified into subfamilies using AtMYBs describing known functions. The results showed that 82 PzMYB transcription factors were excavated, and they encoded 50–1 121 amino acids, predicting hydrophilic and unstable. Their main structural elements were α -helix and irregular curl. Also, the sequence analysis and construction of phylogenetic tree showed that these MYB transcription factors had a certain conserved type, containing [W]-X(19)-[W]-X(19). Eighty-two PzMYB could be divided into 22 categories, and were related to the plant response to biotic stresses, cell development, secondary metabolism etc. Their involvements in response to stresses were reported by several transcriptional studies, which was precisely consistent with the functional prediction. Lastly, the members in the same subfamily had different spatial and temporal expression profiles, with genes in stems and leaves expressed at various levels, which was precisely consistent with the functional prediction. In stem, the numbers of differential expression of genes were eighteen, ten up-regulated and eight down-regulated in leaf. Based on the transcriptome data of *P. zhennan*, an endemic tree in China, we excavated and analyzed its MYB transcription factors, and provided valuable information for PzMYB gene cloning and functional characterization of *P. zhennan*. This research will lay a foundation for the study of molecular biology of *P. zhennan* and provide references for its genetic modification and molecular breeding.

Key words: *Phoebe zhennan*, transcriptome, MYB transcription factors, bioinformatics, gene expression

转录因子又称反式作用因子,是指与基因启动子顺式作用原件发生相互作用,能调控基因转录的一类蛋白质。其特点为普遍含有寡聚化位点区、DNA 结合区、核定位信号区和转录调控区 4 个功能结构域(Liang et al, 2005)。植物分子遗传学的研究表明,转录因子在植物生长发育,生理代谢,病原菌防御,细胞形态及模式建成等一系列生理过程以及对外界环境的反应中起重要作用(Dubos et al, 2010)。因此,利用转录因子对植物进行各方面的调控具有良好前景。植物的次生生长对植物自身机体机械支持、水分运输、抗逆,以及人类的生产活动具有重要意义(田敏等, 2007)。在众多的转录因子家族中, NAC、WRKY、ERF、MYB 等均参与植物的次生生长的代谢调控(陈莹等, 2009)。Mitsuda et al(2005)发现在拟南芥中, NST1(NAC secondary wall thickening promoting factor1, NST1)和 NST2 主要参与对花药细胞次生壁增厚的调控,过表达的 NST1 的转基因拟南芥中某些木质素生物合成基因的表达增强。WRKY 是通过结合植物次生代谢生物合成途径关键酶基因的

启动子元件进而调节代谢过程(Kakeshpour et al, 2015)。MYB 类转录因子则是参与植物苯丙烷类次生代谢途径的调节(Geethalakshmi et al, 2015)。在木质素生物合成关键酶的编码基因的启动子上已经发现与转录调节相关的 AC 元件, AC 元件多存在于苯丙烷途径基因的启动子区,一些 MYB 类转录因子可结合于此,从而参与木质素生物合成,在次生细胞壁形成中具有重要的调控作用(Li et al, 2015)。

MYB 转录因子是最大的植物转录因子基因家族之一,其共同特征是在其 N 端有一段 51~52 个氨基酸组成的 MYB 结构域,各个 MYB 重复片段编码三个 α -螺旋,其中第二个和第三个的 α -螺旋折叠为螺旋-转角-螺旋结构,可在特异识别位点与 DNA 的大沟结合(Hai et al, 2012)。根据 MYB 结构域重复个数(R)将 MYB 转录因子分为 4 类。MYB 转录因子主要参与植物细胞周期、细胞分化、逆境胁迫应答、次生长代谢以及叶片等器官的形态建成等生物学过程(Li et al, 2014)。目前, MYB 转录因子已在拟南芥、金鱼草、大豆、烟草、苹

果、白桦、白杨等物种中分离并鉴定出来 (Cao et al, 2016)。Du et al (2012) 对 157 个玉米 MYB 转录因子和 125 个拟南芥 MYB 转录因子进行分析, 结果表明有 4 个亚组的 MYB 转录因子与木质素合成以及次生壁增厚有关。其中拟南芥 AtMYB26 的异源过表达促使木质部增厚。刘慧子等 (2016) 从白桦 MYB 家族中鉴定了 17 条 MYB 家族基因, 研究表明, 绝大部分的 MYB 基因与形成层发育, 木质部形成相关。叶胜龙 (2015) 对毛白杨 MYB055 转录因子在次生壁合成中的调控机制进行研究, 通过对转基因植株的测定, 结果发现 MYB055 的过量表达可使木质部在茎中的异位沉积, 提高毛白杨中木质素的含量。对转 MYB055 基因植株中关键酶基因的表达量分析得知, 不仅苯丙氨酸代谢途径上基本的关键酶基因表达量有所上升, 而且与木质素合成途径特异相关的关键酶基因、纤维素合成相关基因、木聚糖合成相关基因的表达量也都有所上升。上述研究表明, 植物中 MYB 转录因子可以参与木质素合成调控网络进而调节植物木质部形成, 从而调节植物发育和木材形成。

楠木, 又名桢楠, 为樟科常绿乔木, 是国家二级重点保护树种, 也是我国的特产树种 (张炜等, 2012)。其自然分布较少, 现主要分布在贵州东北部, 四川盆地西部的阔叶林中, 在园林中, 常作为庭荫树或行道树。近年来, 关于楠木的研究报道, 多集中在楠木的育苗与栽培、病虫害防治、人工林生长规律等的研究 (杜娟和卢昌泰, 2009)。这些研究结果表明, 楠木生长缓慢, 木材形成所需周期较长, 其原因有待进一步深入分析。因此, 本研究从楠木转录组数据入手, 结合楠木不同组织高通量测序数据, 对 MYB 转录因子挖掘, 并对其表达进行分析, 为楠木木材形成及发育研究提供基础。

1 材料与方法

1.1 材料

楠木种子采自四川省峨眉山, 种植于四川省林业科学研究院基地。本研究分别取茎和叶为材料, 迅速置于液氮中。将材料送北京百迈客生物

科技有限公司, 提取 RNA 后, 构建测序文库, 利用 Illumina HiSeq™ 2000 平台进行测序, 每个组织重复 2 次。对原始测序数据进行过滤后采用 Trinity (<http://trinityrnaseq.sourceforge.net/>) 软件对经过过滤的高质量数据进行组装获得 unigene 序列。

1.2 方法

1.2.1 PzMYB 序列鉴定与理化性质分析 从拟南芥转录因子数据库 Plantfdb (<http://plantfdb.cbi.pku.edu.cn/>) 下载转录因子序列, 并以此作为参考序列进行对比; 从 Pfam 数据库 (<http://pfam.xfam.org/>) 下载 MYB 家族保守序列 (PF00249), 对转录组数据进行注释, 并剔除假阳性序列。利用 ExPaSy (<http://expasy.org/>) 对 PzMYB 编码的氨基酸进行一二级结构分析。利用 ProtComp (<http://linux1.softberry.com/all.htm>)、SignalP (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP-2.0/>) 对 PzMYB 编码蛋白的亚细胞定位、信号肽进行分析。

1.2.2 PzMYB 序列保守结构域及进化树分析 利用 DNAMAN 5.0 对 PzMYB 进行多序列比对; 利用在线软件 MEME 数据库 (<http://meme.nbcr.net/meme/cgi-bin/meme.cgi>) 对 PzMYB 进行保守序列预测。利用从 Plantfdb 数据库下载的拟南芥 MYB 转录因子作为参考序列, 运用 MEGA 5.0 软件构建邻接树, 构建方法为 Neighbor-Joining, Bootstrap 重复 1 000 次。

1.2.3 PzMYB 序列的功能分析 运用 BlastX 将含有 PzMYB 核苷酸序列对比到 Non-redundant protein sequence database (Nr)、Nucleotide sequence database (Nt)、Gene Ontology database (GO) 和 The database of Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) 数据库中, 对比参数为 $e < 10^{-10}$, 预测生物学功能。

1.2.4 PzMYB 的表达模式分析 基于转录组数据, 利用定量软件 RSEM 进行表达量水平评估, 并利用 FRKM 值表示对应 Unigene 的表达丰度。使用 EBSeq 进行差异表达分析, 获得两个样品之间的差异表达基因集 ($FDR < 0.01$; $Fold\ Change \geq 2$)。将数据均一化后, 使用 R 语言 gplots 程序包绘制热图。

2 结果与分析

2.1 楠木转录因子的挖掘及生物信息学分析

基于楠木转录组数据,与拟南芥转录因子进行对比分析,共对比出转录因子2 275个,涉及 53 种(表 1)。其中,WRKY 转录因子家族是数量最多的一类,共鉴定出 489 个,其次为 NAC 和 MYB

转录因子家族,数量分别为 374 和 147 个。本研究主要对 MYB 转录因子家族进行分析,对初步得到的 147 个 MYB 转录因子进一步分析,利用 Pfam 的 MYB 模型(PF00249)进一步对比筛选,并于 NCBI Conserved Domains 对比,手动去除冗余及不完整编码序列等,共鉴定获得 82 个序列含有 MYB 结构。通过系列分析,从楠木转录组数据中共鉴定出 MYB 家族序列 82 条。

表 1 基于拟南芥数据的楠木转录因子挖掘

Table 1 Excavation of PzMYB from *Phoebe zhennan* transcriptome

家族分类 Classification	数量 Number	家族分类 Classification	数量 Number	家族分类 Classification	数量 Number	家族分类 Classification	数量 Number
MYB	147	CPP	22	HB-PHD	8	Nin-like	12
AP2	19	DBB	7	HD-ZIP	49	RAV	1
ARF	57	Dof	24	HRT-like	1	SBP	29
ARR-B	25	E2F/DP	7	HSF	34	SRS	3
B3	14	EIL	3	LBD	18	STAT	1
BBR-BPC	6	ERF	86	LFY	1	TALE	21
BES1	16	FAR1	83	LSD	3	TCP	15
bHLH	131	G2-like	41	MADS	31	Trihelix	43
bZIP	65	GATA	22	NAC	374	VOZ	1
C2H2	102	GeBP	6	NF-X1	3	Whirly	2
C3H	83	GRAS	56	NF-YA	8	WOX	5
CAMTA	13	GRF	5	NF-YB	10	WRKY	489
CO-like	21	HB-other	26	NF-YC	9	YABBY	3
ZF-HD	14						

82 个 PzMYB 蛋白质的氨基酸数目在 50 ~ 1 121 之间,对应分子量为 5.908 ~ 123.636 kDa;其中有 49 个蛋白的理论等电点大于 7,有 33 个小于 7;pI 最小值为 4.68(PzMYB43),最大值为 10.44(PzMYB69),所有蛋白的理论等电点平均值为 7.76。从不稳定系数来看,有 10 个蛋白的不稳定系数小于 40(稳定蛋白),其他 72 个大于 40(不稳定蛋白),说明楠木 MYB 转录因子家族整体是不稳定蛋白。由脂肪系数可知,81 个 PzMYB 蛋白质小于 100,为亲水性蛋白;只有 1 个大于 100(PzMYB80)。SOPMA 分析表明,PzMYB 蛋白质二

级结构均含有 α -螺旋、 β -转角、扩展链和无规则卷曲结构。其中,23 个以 α -螺旋为主要构成元件,以无规则卷曲构成次要元件;59 个以无规则卷曲为主要构成元件,以 α -螺旋构成次要元件; β -转角和扩展链所占百分比少。

ProtComp 分析表明,82 个 PzMYB 蛋白质中共有 67 个(81.71%)定位在细胞核中;其余 15 个 MYB 成员定位在细胞质中,可能参与细胞质基因的转录调控。采用 SignalP 对信号肽进行预测,82 个 PzMYB 蛋白质中,7 个存在信号肽(PzMYB78、PzMYB4、PzMYB12、PzMYB13、PzMYB21、PzMYB27、

PzMYB33),为分泌蛋白。信号肽位于分泌蛋白的N端,由15~30个氨基酸组成,在蛋白质定位和蛋白移位中起着重要作用;其它PzMYB蛋白则不存在信号肽,这些蛋白可能在细胞质中合成,不进行蛋白质转运。

2.2 PzMYB 基因家族的结构分析

利用DNAMAN和MEME对PzMYB蛋白进行结构域对比分析和保守图绘制(图1,图2)。对于42个R1型MYB序列,其保守结构域氨基酸数目为21~48个,R1保守基序类型为[W]-X(19)-[W]-X(19)-[W],含有3个高度保守的色氨酸残基(W),色氨酸残基间隔19个氨基酸残基序列。此外,含有相对保守的谷氨酸(E),甘氨酸(G),精氨酸(R)残基。对39个R2R3型PzMYB进行对比分析,得到含有60个氨基酸残基的R2结构域和含有39个氨基酸残基的R3结构域。R2结构与R1结构相似,也含有3个色氨酸残基,且色氨酸残基间隔19个氨基酸残基。对于R1和R2,替代第一个色氨酸残基的通常为苯丙氨酸(F)和亮氨酸(L)。同时,R2含有相对保守氨基酸残基序列半胱氨酸(C)甘氨酸(G)赖氨酸(K)丝氨酸(S)半胱氨酸(C)精氨酸(R)亮氨酸(L)精氨酸(R),以及甘氨酸(G),谷氨酸(E),精氨酸(R)等保守氨基酸残基。与R1和R2不同,PzMYB中R3保守结构域含有2个色氨酸残基,均表现为高度保守,均未发生替换现象;此外含有多个高度保守氨基酸残基,如亮氨酸(L),谷氨酸(E),甘氨酸(G),精氨酸(R)等。上述结果表明,PzMYB结构域具有高度保守性,除了含有色氨酸残基外,还含有其他保守氨基酸残基和序列,这样的结构可以更好的维持PzMYB的螺旋角螺旋结构,从而与DNA分子进行结合而发挥功能。

2.3 PzMYB 系统进化树分析

植物中的MYB转录因子数量众多,基因功能种类繁多,且在拟南芥中研究较为透彻。为了比较系统的研究PzMYB蛋白家族的进化关系并预测其功能,采用MEGA5.10软件构建PzMYB和AtMYB进化树(图3)。基于拟南芥MYB转录因子划分的25个亚家族(S1-S25),对PzMYB家族进行系统进化树构建,由图3可知,在S9、S10、S25

这3个亚家族中未发现PzMYB家族蛋白,其余22个亚家族中均有PzMYB分布。基于拟南芥中的研究,PzMYB可主要分为以下几类。

植物次生代谢方面,MYB转录因子在基因水平上研究最清楚的是黄酮类化合物的生物代谢途径,它是苯丙烷类代谢途径中的一个重要分支,主要参与黄酮类化合物的合成(李军等,2016)。在拟南芥中,S4、S5、S6、S7亚家族参与花青素和黄酮类化合物合成途径(Li et al,2016)。该亚家族中,涉及PzMYB48、PzMYB5、PzMYB34、PzMYB18、PzMYB50、PzMYB76和PzMYB31,其可能参与花青素和黄酮类化合物的合成。楠木的PzMYB22具有类似的功能,可能具有调控单宁酸的过程。

植物生长发育方面,AtMYB58、AtMYB63、AtMYB72在拟南芥纤维和导管中激活木质素的生物合成(Tak et al,2017);AtMYB52、AtMYB54、AtMYB69、AtMYB0/1能够促进纤维细胞中细胞壁的增厚(Omer et al,2013)。由此推测楠木PzMYB12、PzMYB15、PzMYB9、PzMYB16、PzMYB46、PzMYB41、PzMYB69、PzMYB71、PzMYB49、PzMYB53可能参与木质素的生物合成及细胞壁的增厚等次生生长过程。在拟南芥中,S15亚家族、S21亚家族、S3亚家族和S8亚家族参与木质素的生物合成、次生细胞壁合成的调控网络(Guo et al,2017)。基于此,PzMYB17、PzMYB14可能参与毛状体的生成;PzMYB40、PzMYB32、PzMYB38、PzMYB4可能参与调控叶腋分生组织的表达。

植物抗逆性方面,拟南芥S18亚家族,S3亚家族,S22亚家族和S1亚家族参与非生物胁迫(Aoyagi et al,2014)(如高温和干旱)和生物胁迫(如细菌、霉菌)(Zhang et al,2011)。通过聚类分析,在PzMYB中有16个与抗逆相关的AtMYB亚家族聚集在一起,涉及PzMYB77、PzMYB82、PzMYB70和PzMYB73等,说明PzMYB转录因子可能参与楠木的胁迫响应等生理过程。

2.4 PzMYB 功能预测

利用BLAST软件将含有PzMYB序列与Nr、Nt、GO和KEGG数据库进行对比,获得注释文件。结果表明,82条PzMYB序列均得到注释。在Nr数据库和KOG数据库中82条序列均得到注释;其

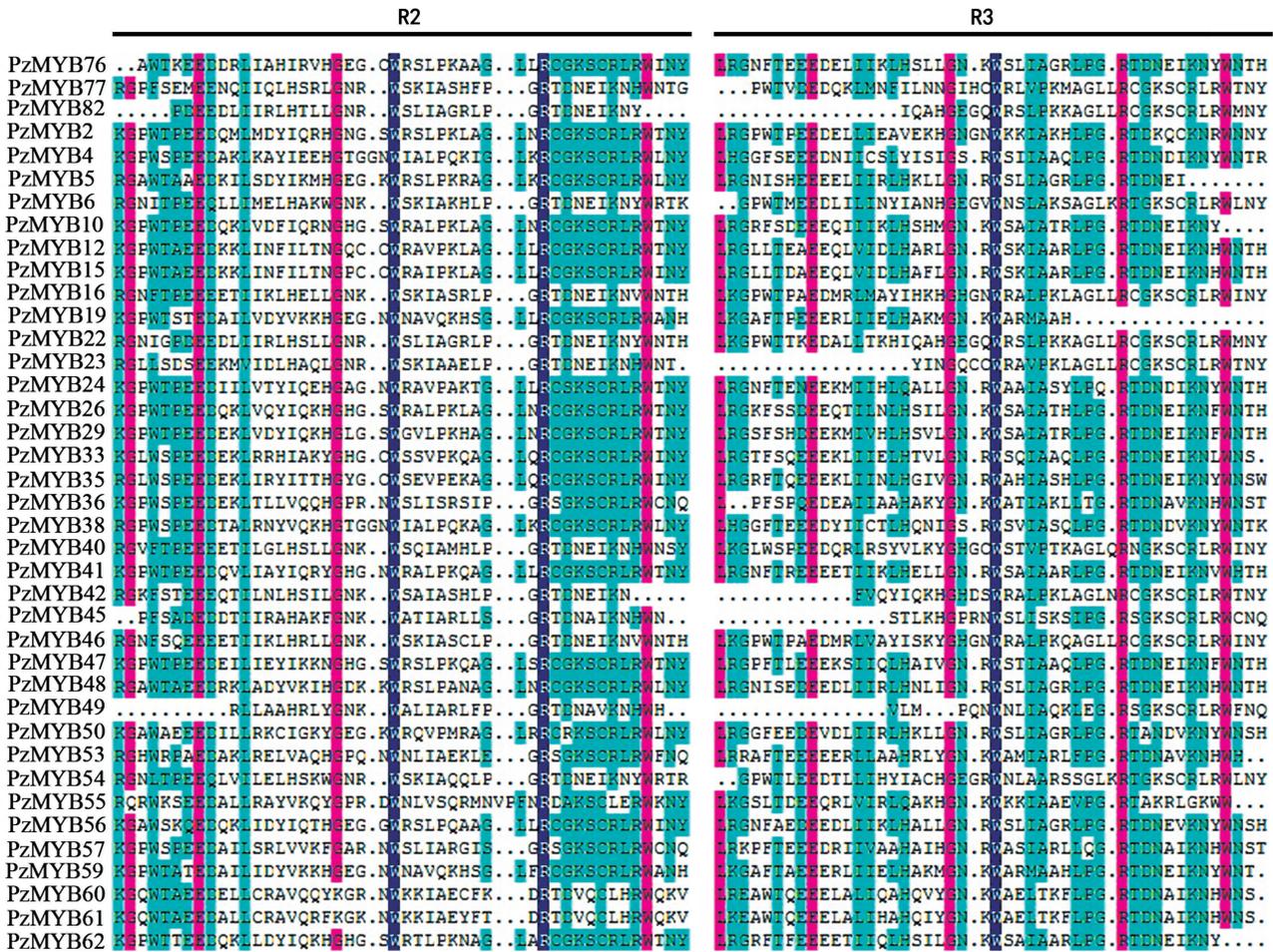


图 1 PzMYB 的氨基酸序列对比

Fig. 1 Alignment of the amino acid sequence of PzMYB

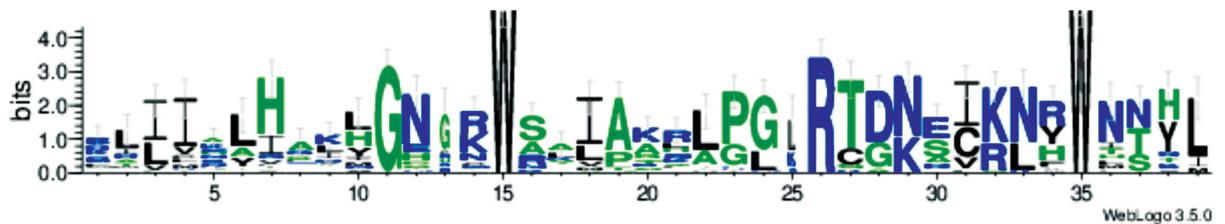


图 2 PzMYB 的 DNA binding 结构域

Fig. 2 Conserved DNA binding domain of PzMYB

次是在 GO 数据库中,注释条数为 69 条。KEGG 数据库注释数量为 49 条。GO 分类注释表明,注释序列涉及 23 个 GO 分类。其中,注释到分子功能 (Molecular Function)、细胞组分 (Cellular Compo-

nent) 和生物学过程 (Biological Process) 分类号分别为 51、20、52 个。在分子功能类中,主要与结合活性有关,注释最多的 GO 分类为 binding; 在细胞进程和生物学进程类中,主要以 cellular component

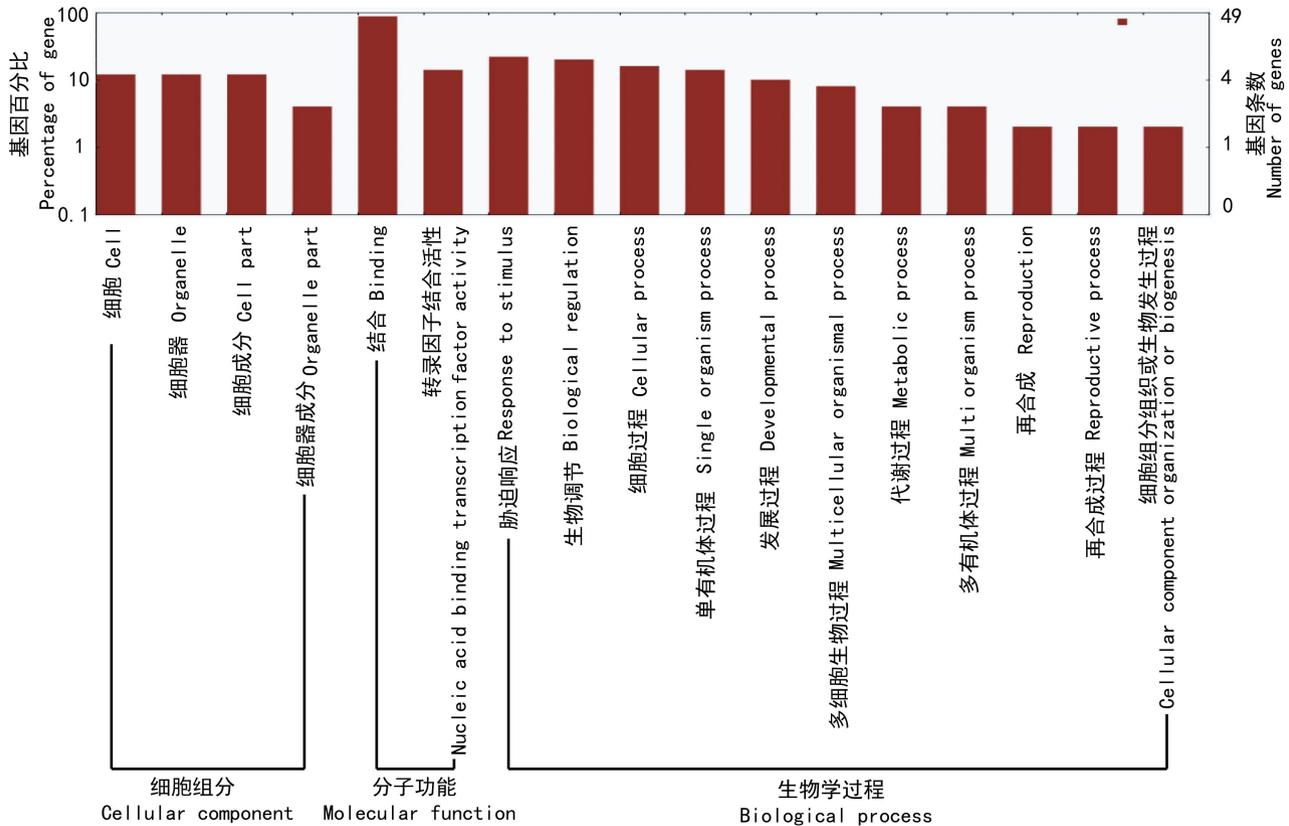


图 4 PzMYB 家族基因的 GO 分类

Fig. 4 GO classification of of PzMYB gene family

量高,而在叶组织中表达呈下调;而 PzMYB6、PzMYB65、PzMYB67 和 PzMYB72 PzMYB80、PzMYB58、PzMYB73 和 PzMYB63 在叶片中表达量呈现上调。根据表达模式推测, PzMYB4、PzMYB17、PzMYB26 和 PzMYB78 可能参与楠木茎的次生生长和木质素合成等途径; PzMYB31、PzMYB76 可能参与楠木叶片的次级代谢、产物代谢和物质合成等途径,这也与功能预测相一致。后续可通过对 PzMYB 基因进行克隆,并转化模式植物等深入分析,进一步验证挖掘的 PzMYB 功能。

3 讨论与结论

由于木本植物杂合性强,基因组数据相对较大和复杂,很难在短时间内获得其全基因组数据信息,这严重制约了木本植物的相关研究(江香梅

等,2014)。但是随着高通量测序技术的发展,使得转录组测序技术更加准确和快速。尽管与全基因组测序相比,转录组测序具有一定的局限性,但是作为一种高效的方法广泛应用于植物研究,尤其是非模式植物。对于没有参考基因组的木本植物,可以先采用转录组测序等高通量测序技术构建相应的数据库信息,从而提供相应的遗传背景信息。本研究采用 Illumina HiSeq2000 平台对楠木茎叶组织进行转录组测序,得到了丰富的基因信息和高质量的拼接序列,为楠木及其近缘植物的生物学研究提供了有利的数据支持。同时,基于相关基因的分析,也为其问题解决和后续研究开展提供了参考和支持。

MYB 基因家族是一类在植物生长发育过程中起重要作用的转录因子。在植物中,第一个 MYB 基因 ZmMYB1 从玉米中克隆得到(马婧等,2009),现已从拟南芥、金鱼草、大豆、烟草、苹果、

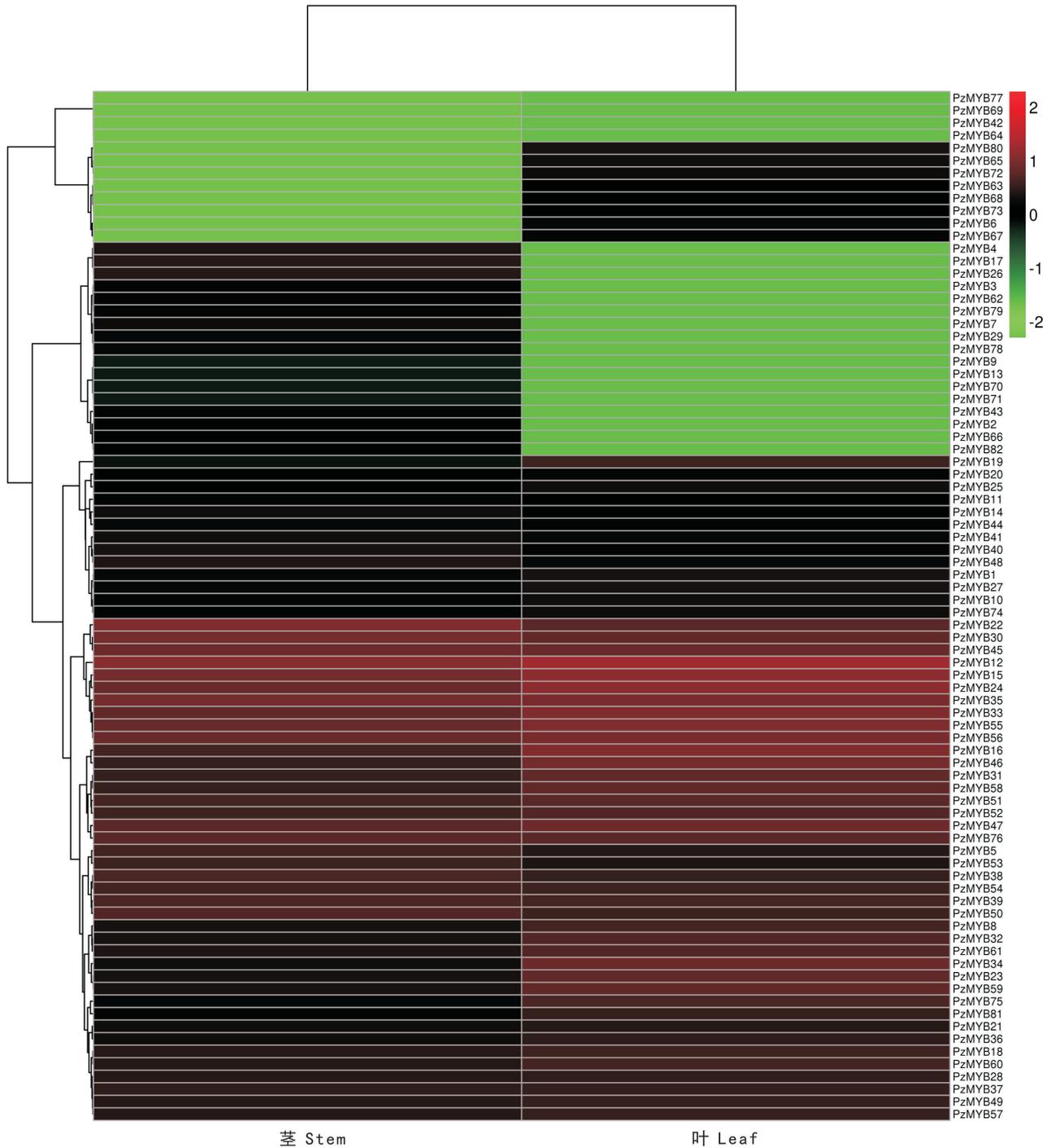


图 5 PzMYB 家族基因在组织中的表达模式
Fig. 5 Pattern of tissue expression of PzMYB gene family

白桦、白杨、梨等植物中已经克隆上千个 MYB 家族序列(张丽等, 2013), 这为其他物种 MYB 基因家族的挖掘和分析提供了有利条件。本文正是基于前人的研究, 利用课题组构建的楠木转录组数

据库, 运用生物信息学手段, 对 MYB 家族进行分析, 共鉴定出 MYB 家族基因 82 个, 氨基酸数目在 50~1 121 之间, 可能是由于可变剪切导致了不同基因编码区和非编码区在基因全长的比例呈现多

态性(谢腾等,2014)。二级结构预测表明,其主要元件为 α -螺旋和无规则卷曲等;81.71%的 PzMYB 定位在细胞核中,这说明大部分 PzMYB 可能与靶基因的 DNA 结合区域结合而发挥作用。同时对保守结构域进行分析,PzMYB 基因家族具有高度保守性,含有两个高度保守的色氨酸残基以及氨基酸残基间隔数目,第一个色氨酸残基位置可被苯丙氨酸替代,这与其他报道结果相一致(Zhao et al,2014)

作为一种重要的模式植物,拟南芥中 MYB 家族基因功能研究较为清晰。对 PzMYB 与 AtMYB 进行同源进化树构建,研究 PzMYB 与拟南芥的进化关系,从而对 PzMYB 进行功能的预测,为后续的功能验证提供参考。基于同源性分析,与拟南芥 S4-S7 亚家族聚类的 PzMYB48、PzMYB5、PzMYB34 等 7 个 PzMYB 可能参与到花青素与类黄酮等物质合成途径中相关基因的转录调控。如 PzMYB31 可能转录激活类黄酮生物合成途径中的 CHS,CHI 和 FLS 等上游基因,PzMYB18、PzMYB50 可能与 AtMYB75、AtMYB90 功能类似,与 bHLH 等形成复合体,从而转录调控 ANS 等花青素合成途径中的下游基因。同时,研究表明 MYB 家族与植物纤维素和木质素等植物次生细胞壁合成的关键调节因子,如过表达 AtMYB46 和 AtMYB83 通过调控上述物质合成,导致次生细胞壁沉积(Zhou et al,2009)。由此推测,楠木中 PzMYB12、PzMYB15、PzMYB9 等 10 个可能参与楠木次生细胞壁的生成。楠木作为我国二级濒危植物,其生长缓慢,60 a 才能进入快速生长期,从而严重制约了楠木的发展和大规模种植,如果能够运用分子生物学的方法对其品种进行改良和筛选,从而加速其生长和次生物质积累,将具有重要的意义。

参考文献:

AOYAGI LN, LOPESCAITA VS, CARVALHO MC, et al, 2014. Genomic and transcriptomic characterization of the transcription factor family R2R3-MYB in soybean and its involvement in the resistance responses to *Phakopsora pachyrhizi* [J]. *Plant Sci*, 229(12): 32-42.

CAO Y, HAN Y, LI D, et al, 2016. MYB transcription factors

in chinese pear (*Pyrus bretschneideri* Rehd.) genome-wide identification, classification, and expression profiling during fruit development [J]. *Front Plant Sci*, 7(10):577-590.

CHEN Y, SUN X, HU SL, et al, 2009. Analysis of NAC transcription factor and its domain with secondary growth in *Arabidopsis thaliana* [J]. *J NW A & F Univ*, 37(5): 185-200. [陈莹,孙霞,胡尚连,等,2009.拟南芥次生生长期相关 NAC 转录因子保守结构域分析[J].西北农林科技大学学报,37(5):185-194.]

DU H, FENG BR, YANG SS, et al, 2012. The R2R3-MYB transcription factor gene family in maize [J]. *PLoS ONE*, 7(6):e37463.

DU J, RU CT, 2009. Study on growth regularity of *Phoebe zhen-nan* plantation [J]. *J Zhejiang For Sci & Technol*, 29(5):9-12. [杜娟,卢昌泰,2009.楠木人工林生长规律的研究[J].浙江林业科技,29(5):9-12.]

DUBOS C, STRAC R, GRATEWOLD E, et al, 2010. MYB transcription factors in *Arabidopsis* [J]. *Trends Plant Sci*, 15(10):573-81.

GEETHALAKSHMI S, BARATHKUMAR S, PRABU G, 2015. The MYB transcription factor family genes in sugarcane (*Saccharum* sp.) [J]. *Plant Mol Biol Rep*, 33(3):512-531.

GUO H, WANG Y, WANG L, et al, 2017. Expression of the MYB transcription factor gene BpLMYB46 affects abiotic stress tolerance and secondary cell wall deposition in *Betula platyphylla* [J]. *Plant Biotechnol J*, 15(1):107-121.

HAI D, YANG SS, ZHE L, et al, 2012. Genome-wide analysis of the MYB transcription factor superfamily in soybean [J]. *BMC Plant Biol*, 12(1):106-128.

JIANG XM, WU YF, XIAO FM, et al, 2014. Transcriptome analysis for leaves of five chemical types in *Cinnamomum camphora* [J]. *Hereditas*, 36(1):58-68. [江香梅,伍艳芳,肖复明,等,2014.樟树 5 种化学类型叶片转录组分析[J].遗传,36(1):58-68.]

KAKESHPOUR T, NAVEBI S, MONFARED SR, et al, 2015. Identification and expression analyses of MYB and WRKY transcription factor genes in *Papaver somniferum* L [J]. *Physiol Mol Biol Plants*, 21(4):465-478.

LI C, NG KY, FAN LM, 2014. MYB transcription factors, active players in abiotic stress signaling [J]. *Environ Exp Bot*, 114(6):80-91.

LI C, QIU J, YANG G, et al, 2016. Isolation and characterization of a R2R3-MYB transcription factor gene related to anthocyanin biosynthesis in the spathe of *Anthurium andraeanum* [J]. *Plant Cell Rep*, 35(10):1-15.

LI C, WANG X, RAN L, et al, 2015. PtoMYB92 is a transcriptional activator of the lignin biosynthetic pathway during secondary cell wall formation in *Populus tomentosa* [J]. *Plant Cell Physiol*, 56(12):24-36.

LI J, ZHAO AC, LIU CY, et al, 2016. Identification and function analysis of anthocyaninbiosynthesis related MYB Genes

- in mulberry [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 36(6): 1110–1116. [李军,赵爱春,刘长英,等,2016.桑树花青素合成相关 MYB 类转录因子的鉴定与功能分析[J].西北植物学报,36(6):1110–1116.]
- LIANG YK, DUBOSS C, DODD IC, et al, 2005. At MYB61, an R2R3-MYB transcription factor controlling stomatal aperture in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Curr Biol*, 15(13): 1201–1206.
- LIU HZ, SUN D, YU Y, et al, 2016. Sequence and expression analysis of MYB family genes in *Betula platyphylla* Suk [J]. *Bull Bot Res*, 36(2):252–257. [刘慧子,孙丹,于颖,等,2016.白桦 MYB 家族基因序列及表达分析[J].植物研究,36(2):252–257.]
- MA J, ZHU QL, GUO TY, et al, 2009. Cloning and molecular characteristics analysis of a MYB gene from *Fagopyrum dibotrys* [J]. *Chin J Chin Mat Med*, 34(17):2155–2159. [马婧,祝钦沅,郭铁英,等,2009.金荞麦 MYB 转录因子基因 FdMYBP1 的克隆及分子特征分析[J].中国中药杂志,34(17):2155–2159.]
- MITSUDA N, SEKI M, SHINOZAKI K, et al, 2005. The NAC transcription factors NST1 and NST2 of *Arabidopsis* regulate secondary wall thickenings and are required for anther dehiscence [J]. *Plant Cell*, 17(11):2993–3006.
- OMER S, KUMAR S, KHAN BM, 2013. Over-expression of a subgroup 4 R2R3 type MYB transcription factor gene from *Leucaena leucocephala* reduces lignin content in transgenic tobacco [J]. *Plant Cell Rep*, 32(1):161–171.
- TAK H, NEGI S, GANAPATHI TR, 2017. Overexpression of MusaMYB31, a R2R3 type MYB transcription factor gene indicate its role as a negative regulator of lignin biosynthesis in banana [J]. *PLoS ONE*, 12(2):e0172695.
- TIAN M, XIA QM, LI JY, 2007. The secondary growth in plant and its molecular regulation [J]. *Hereditas*, 29(11):1324–1330. [田敏,夏琼梅,李纪元,2007.植物的次生生长及其分子调控[J].遗传,29(11):1324–1330.]
- XIE T, WANG S, HUANG L, et al, 2014. Transcriptome-based bioinformatics analysis of *Arnebia euchroma* ERF transcription factor family [J]. *Chin J Chin Mat Med*, 39(24): 4732–4739. [谢腾,王升,黄蕾,等,2014.基于转录组的新疆紫草 ERF 转录因子家族生物信息学分析[J].中国中药杂志,39(24):4732–4739.]
- YE SL, 2015. The regulation mechanism of the poplar Pto-MYB055 transcription factor involved in secondary cell wall formation [D]. Chongqing: Southwest University. [叶胜龙,2015.毛白杨 MYB055 转录因子在次生壁合成中的调控机制研究[D].重庆:西南大学.]
- ZHANG L, HU SL, CAO Y, et al, 2013. Biosynthesis transcription factors and genetic regulation network analysis of plant lignin biosynthesis [J]. *J Fujian For Sci Technol*, 40(1):1–5. [张丽,胡尚连,曹颖,等,2013.植物木质素生物合成转录因子及调控遗传网络分析[J].福建林业科技,40(1):1–5.]
- ZHANG L, ZHAO G, JIA J, et al, 2011. Molecular characterization of 60 isolated wheat MYB genes and analysis of their expression during abiotic stress [J]. *J Exp Bot*, 63(1): 203–214.
- ZHANG W, HE XB, TANG SQ, et al, 2012. Study on the growth characteristics and distribution of *Phoebe zhennan* in Sichuan [J]. *Chin For Sci Technol*, 26(5):38–41. [张炜,何兴炳,唐森强,等,2012.四川桢楠生长特性与分布[J].林业科技开发,26(5):38–41.]
- ZHAO PP, LI Q, LI J, et al, 2014. Genome-wide identification and characterization of R2R3MYB family in *Solanum lycopersicum* [J]. *Mol Gen Genet*, 289(6): 1183–1207.
- ZHOU J, LEE C, ZHONG R, et al, 2009. MYB58 and MYB63 are transcriptional activators of the lignin biosynthetic pathway during secondary cell wall formation in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 21(1):248–266.