

谷佳,王童欣,饶英,等. 基于三色堇全长转录组的 MYB 基因家族鉴定[J]. 江苏农业科学,2022,50(22):11-19.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.22.002

基于三色堇全长转录组的 MYB 基因家族鉴定

谷佳¹,王童欣¹,饶英²,潘庆龙¹,李霆格¹,赵莹¹,周扬¹,彭婷²,王健¹

(1. 热带特色林木花卉遗传与种质创新教育部重点实验室/海南省热带特色花木资源生物学重点实验室/海南大学林学院,海南海口 570228;
2. 贵州大学农学院,贵州贵阳 550025)

摘要:在全长转录组水平鉴定三色堇(*Viola × wittrockiana* Gams.) 梦蝶品种 MYB 转录因子家族成员,对其序列特征、进化关系、蛋白质保守基序等生物信息学特征进行鉴定,为三色堇 MYB 基因功能研究提供参考。鉴定结果表明,三色堇含有 121 个 MYB,包含 61 个 1R-MYB、57 个 R2R3-MYB 与 3 个 3R-MYB 类转录因子;保守基序预测得到 20 个 motif,其中 motif2 分布频次最高(15.2%),motif20 分布频次最低(0.3%);利用 WebLogo 分析鉴定出三色堇 R2R3-MYB 类转录因子保守结构域含有 W 型 R2R3 保守基序;通过三色堇与拟南芥的同源性进化关系对三色堇基因功能进行预测,得到 30 个亚群,其中 22 个亚群能聚集到拟南芥亚群中,可推测这些 *Vw*MYB 基因具有相似的功能。本研究结果可为三色堇 MYB 基因的功能挖掘提供理论基础。

关键词:三色堇;MYB 转录因子;全长转录组;基因家族;进化分析

中图分类号: S682.301;S188+.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2022)22-0011-08

植物在生长发育过程中受到多种转录因子调控,如 WRKY、MYB、AP2/ERF 转录因子等^[1],其中 MYB 家族具有特定的保守结构域,根据其结构域重复的次数可分为 4R-MYB、3R-MYB、1R-MYB、R2R3-MYB 等 4 类,其中 R2R3-MYB 转录因子是 MYB 家族中最重要的、目前研究最广泛的一类转录因子,在植物体内广泛存在^[2]。MYB 转录因子对植物具有重要影响,可以参与植物根、茎、叶和花的生长^[3],也可调控植物代谢,如调节类黄酮、花青素等物质合成^[4]。目前,通过基因组以及转录组数据对物种进行 MYB 基因家族进行鉴定,从而对物种生长发育进一步进行研究探索,已经在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、彩叶杨(*Populus deltoids*)、甘蔗(*Saccharum* sp.) 等物种进行 MYB 基因家族研究,如拟南芥中发现含有 126 个 R2R3-MYB、64 个 1R-MYB、5 个 3R-MYB、1 个 4R-MYB^[2],在彩叶杨中已被鉴定出 183 个 R2R3-MYB、5 个

3R-MYB、1 个 4R-MYB 和 113 个 1R-MYB^[5],在甘蔗中鉴定出 57 个 R2R3-MYB、13 个 1R-MYB^[6],进行基因家族的鉴定已经成为 MYB 功能挖掘的重要研究手段。

三色堇(*Viola × wittrockiana* Gams.) 为堇菜科堇菜属植物,是常见的花卉植物,因其花斑形状多样,颜色多彩而具有较高的观赏价值和经济价值,国内外应用十分广泛。目前,对三色堇 MYB 基因家族分析未见报道,其在三色堇中基因功能尚不清楚。本研究通过对三色堇 3 代全长转录组测序,在三色堇 3 代全长转录组数据的基础上鉴定出三色堇 MYB 转录因子并对其序列特征、蛋白质保守基序、进化关系等进行分析,对挖掘三色堇中具有特殊功能的 MYB 基因具有重要的意义。

1 材料与方法

1.1 材料与序列来源

材料使用花瓣为黄底紫斑的三色堇(*Viola × wittrockiana* Gams.) 梦蝶,2020 年 1 月种植于海南大学林学院基地,播种 3 个月后采摘三色堇植株的根、茎、叶、花并均匀混合,置于液氮中速冻,送广州基迪奥生物科技有限公司利用单分子实时测序技术(SMRT)进行三色堇 3 代全长转录组测序。蛋白序列源于本测序上传的所有转录组数据库,拟南芥 MYB 家族氨基酸序列下载于 Plant TFDB 3.0。

收稿日期:2021-12-02

基金项目:国家自然科学基金(编号:31760590、32060365、32160719)。

作者简介:谷佳(1996—),女,贵州兴义人,硕士研究生,主要从事种质资源与遗传改良方面研究。E-mail:1525481207@qq.com。

通信作者:王健,博士,教授,博士生导师,主要从事热带园林植物和芳香植物的种质资源与园林应用、遗传改良及分子生物学等领域研究。E-mail:wjhainu@hainanu.edu.cn。

1.2 三色堇 MYB 转录因子鉴定与序列特征分析

从 Pfam 31.0 数据库下载 MYB 结构域种子文件 (PF00249), 之后利用 HMMER 3.2.1 软件创立 Profile HMM (数值表格型隐马可夫模型)^[7], 检索三色堇转录数据, 对检索结果去冗余, 得到候选 VwMYB 蛋白序列。候选蛋白序列用 SMART 软件预测^[8], 再通过 NCBI 的 Blastp 分析, 去除重复序列, 得到三色堇 MYB 序列蛋白。利用在线工具 ExPAS 软件对三色堇 MYB 转录因子家族成员的蛋白分子量 (pW)、蛋白长度以及等电点 (pI) 等基本属性进行分析^[9]; 利用 CELLO v. 2.5 软件进行亚细胞定位预测^[10]。

1.3 三色堇 MYB 家族保守结构域分析

使用软件 MEGA - X 中的 ClustalW 对三色堇 R2R3 - MYB 进行多序列比对, 再利用 WebLogo 软件获取序列标识。利用在线网站 MEME 和 TBtools 软件分析三色堇 MYB 转录因子蛋白保守基序序列^[11]。

1.4 三色堇 R2R3 - MYB 转录因子系统发育分析

使用 MEGA - X 软件, 利用邻域连接 (NJ) 法, 设置 bootstrap ($n = 1\ 000$) 进行系统发育分析^[12]。

2 结果与分析

2.1 三色堇 MYB 转录因子基因鉴定与分类

以 MYB 结构域序列作为靶序列, 利用三色堇全长转录组数据进行筛选, 得到 141 个 MYB 转录因子, 后通过 SMART 与 Blastp 2 次筛选最终得到 121 个 MYB, 分别编号 VwMYB1 ~ VwMYB121, 其中共包含 61 个 1R - MYB, 57 个 R2R3 - MYB 以及 3 个 3R - MYB 类转录因子。

2.2 三色堇 MYB 类转录因子基本信息分析

对三色堇 MYB 转录因子家族成员的氨基酸序列、分子量、等电点进行分析, 结果表明, 三色堇 MYB 基因家族中, 序列最长的为 VwMYB61 (Isoform0000184), 有 1 996 个氨基酸残基, 最短的为 VwMYB91 (Isoform0026081), 有 119 个氨基酸残基; 等电点从 10.16 (VwMYB43, Isoform0045501) 到 4.44 (VwMYB75, Isoform0008562); 分子量从 13.9 ku (VwMYB91, Isoform0026081) 到 216.3 ku (VwMYB61, Isoform0000184)。蛋白亚细胞定位预测显示, 多数 MYB 定位到细胞核, 还有部分定位到细胞质、线粒体等 (表 1)。

表 1 三色堇 MYB 转录因子基本信息

基因	重命名	同源拟南芥基因模型 ID	MYB 类型	蛋白质性质			亚细胞定位
				蛋白长度 (aa)	等电点	分子量 (u)	
Isoform0000558	VwMYB1	AT3G52250	R2R3MYB	1 738	6.09	190 509.26	细胞核
Isoform0000676	VwMYB2	AT3G52250	R2R3MYB	1 719	6.64	188 537.95	细胞核
Isoform0002005	VwMYB3	AT1G09770	R2R3MYB	729	7.61	83 117.09	细胞核
Isoform0007439	VwMYB4	AT1G14350	R2R3MYB	478	5.97	53 986.11	细胞核
Isoform0008774	VwMYB5	AT3G11450	R2R3MYB	647	8.81	74 100.44	细胞核
Isoform0010948	VwMYB6	AT5G58900	R2R3MYB	314	9.07	35 188.26	细胞核
Isoform0011970	VwMYB7	AT3G11450	R2R3MYB	650	8.32	74 113.53	细胞核
Isoform0013084	VwMYB8	AT5G58900	R2R3MYB	310	9.37	34 958.99	细胞核
Isoform0013859	VwMYB9	AT5G06100	R2R3MYB	561	4.96	61 270.55	细胞核
Isoform0014051	VwMYB10	AT5G06100	R2R3MYB	561	5.14	61 482.96	细胞核
Isoform0017263	VwMYB11	AT1G76880	R2R3MYB	540	6.51	60 717.12	细胞核
Isoform0017685	VwMYB12	AT4G28610	R2R3MYB	521	5.35	57 090.18	细胞核
Isoform0018171	VwMYB13	AT3G13040	R2R3MYB	463	5.29	50 787.09	细胞核
Isoform0019662	VwMYB14	AT3G13040	R2R3MYB	488	5.63	53 987.05	细胞核
Isoform0020154	VwMYB15	AT3G13040	R2R3MYB	496	5.22	54 201.10	细胞核
Isoform0020638	VwMYB16	AT4G28610	R2R3MYB	486	5.06	53 066.60	细胞核
Isoform0020654	VwMYB17	AT1G76880	R2R3MYB	562	8.21	63 125.85	细胞核
Isoform0021084	VwMYB18	AT1G76880	R2R3MYB	571	7.81	63 928.60	细胞核
Isoform0021881	VwMYB19	AT2G38090	R2R3MYB	310	7.07	34 580.50	细胞核
Isoform0022914	VwMYB20	AT1G76880	R2R3MYB	486	7.16	55 167.06	细胞核
Isoform0024892	VwMYB21	AT2G37630	R2R3MYB	347	9.29	39 913.55	细胞核

表 1(续)

基因	重命名	同源拟南芥 基因模型 ID	MYB 类型	蛋白性质			亚细胞定位
				蛋白长度(aa)	等电点	分子量(u)	
<i>Isoform0026073</i>	<i>VwMYB22</i>	AT5G29000	R2R3MYB	451	5.28	50 645.45	细胞核
<i>Isoform0026666</i>	<i>VwMYB23</i>	AT2G38090	R2R3MYB	306	6.40	34 239.15	细胞核
<i>Isoform0029488</i>	<i>VwMYB24</i>	AT1G08810	R2R3MYB	444	5.83	49 107.84	细胞核
<i>Isoform0030848</i>	<i>VwMYB25</i>	AT1G76880	R2R3MYB	536	6.46	60 104.55	细胞核
<i>Isoform0033607</i>	<i>VwMYB26</i>	AT3G09230	R2R3MYB	351	7.16	38 668.56	细胞核
<i>Isoform0033985</i>	<i>VwMYB27</i>	AT5G08520	R2R3MYB	294	6.64	31 242.60	细胞核
<i>Isoform0038148</i>	<i>VwMYB28</i>	AT5G08520	R2R3MYB	296	6.31	31 708.18	细胞核
<i>Isoform0039180</i>	<i>VwMYB29</i>	AT4G37260	R2R3MYB	318	8.77	34 686.02	细胞核
<i>Isoform0039246</i>	<i>VwMYB30</i>	AT5G15310	R2R3MYB	386	7.67	42 561.39	细胞核
<i>Isoform0039757</i>	<i>VwMYB31</i>	AT5G15310	R2R3MYB	399	6.25	43 975.71	细胞核
<i>Isoform0040004</i>	<i>VwMYB32</i>	AT3G47600	R2R3MYB	374	6.42	42 011.46	细胞核
<i>Isoform0041177</i>	<i>VwMYB33</i>	AT3G09230	R2R3MYB	354	7.70	38 521.51	细胞核
<i>Isoform0041665</i>	<i>VwMYB34</i>	AT3G24120	R2R3MYB	291	6.80	31 419.82	细胞核
<i>Isoform0042345</i>	<i>VwMYB35</i>	AT5G62470	R2R3MYB	319	5.62	36 138.19	细胞核
<i>Isoform0043319</i>	<i>VwMYB36</i>	AT2G47460	R2R3MYB	280	9.45	30 648.56	细胞核
<i>Isoform0043713</i>	<i>VwMYB37</i>	AT3G61250	R2R3MYB	315	6.33	34 382.71	细胞核
<i>Isoform0043799</i>	<i>VwMYB38</i>	AT4G37260	R2R3MYB	341	9.35	36 013.76	细胞核
<i>Isoform0044432</i>	<i>VwMYB39</i>	AT2G47460	R2R3MYB	285	9.28	31 375.29	细胞核
<i>Isoform0044502</i>	<i>VwMYB40</i>	AT5G62470	R2R3MYB	288	7.64	32 401.11	细胞核
<i>Isoform0044683</i>	<i>VwMYB41</i>	AT2G47460	R2R3MYB	342	5.18	38 385.03	细胞核
<i>Isoform0044883</i>	<i>VwMYB42</i>	AT1G79430	R2R3MYB	365	6.46	41 455.47	细胞核
<i>Isoform0045501</i>	<i>VwMYB43</i>	AT5G49330	R2R3MYB	161	10.16	17 998.44	细胞核
<i>Isoform0045698</i>	<i>VwMYB44</i>	AT4G37260	R2R3MYB	180	9.13	19 664.11	细胞核
<i>Isoform0046349</i>	<i>VwMYB45</i>	AT5G45420	R2R3MYB	316	9.24	34 770.97	细胞核
<i>Isoform0046840</i>	<i>VwMYB46</i>	AT5G18620	R2R3MYB	1 080	5.61	124 810.09	细胞质
<i>Isoform0048176</i>	<i>VwMYB47</i>	AT4G38620	R2R3MYB	285	8.87	31 920.09	细胞核
<i>Isoform0048253</i>	<i>VwMYB48</i>	AT4G38620	R2R3MYB	193	6.28	21 853.44	细胞核
<i>Isoform0048711</i>	<i>VwMYB49</i>	AT1G68320	R2R3MYB	293	5.78	33 688.62	细胞核
<i>Isoform0049224</i>	<i>VwMYB50</i>	AT1G66230	R2R3MYB	269	4.93	29 531.21	细胞核
<i>Isoform0049754</i>	<i>VwMYB51</i>	AT1G66370	R2R3MYB	168	9.87	19 484.36	细胞核
<i>Isoform0050084</i>	<i>VwMYB52</i>	AT4G38620	R2R3MYB	228	8.99	25 862.49	细胞核
<i>Isoform0050844</i>	<i>VwMYB53</i>	AT4G38620	R2R3MYB	209	6.31	23 762.54	细胞核
<i>Isoform0051732</i>	<i>VwMYB54</i>	AT1G66370	R2R3MYB	206	9.46	23 300.20	细胞核
<i>Isoform0054384</i>	<i>VwMYB55</i>	AT1G09770	R2R3MYB	964	5.65	109 165.15	细胞核
<i>Isoform0055572</i>	<i>VwMYB56</i>	AT1G09770	R2R3MYB	994	5.44	111 924.53	细胞核
<i>Isoform0055832</i>	<i>VwMYB57</i>	AT1G09770	R2R3MYB	936	5.53	105 907.39	细胞核
<i>Isoform0015483</i>	<i>VwMYB58</i>	AT5G02320	3RMYB	521	9.37	58 569.23	细胞核
<i>Isoform0019770</i>	<i>VwMYB59</i>	AT5G02320	3RMYB	530	9.31	59 490.01	细胞核
<i>Isoform0053889</i>	<i>VwMYB60</i>	AT4G32730	3RMYB	1 054	5.13	116 564.51	细胞核
<i>Isoform0000184</i>	<i>VwMYB61</i>	AT3G24880	R1MYB	1 996	7.27	216 392.55	细胞核
<i>Isoform0000208</i>	<i>VwMYB62</i>	AT3G24880	R1MYB	1 983	6.91	215 741.42	细胞核
<i>Isoform0001271</i>	<i>VwMYB63</i>	AT1G01060	R1MYB	749	6.40	82 059.10	细胞核
<i>Isoform0002309</i>	<i>VwMYB64</i>	AT1G01060	R1MYB	755	6.10	83 094.12	细胞核
<i>Isoform0002845</i>	<i>VwMYB65</i>	AT2G36960	R1MYB	778	6.26	86 333.64	细胞核
<i>Isoform0004398</i>	<i>VwMYB66</i>	AT2G36960	R1MYB	761	5.90	84 406.68	细胞核
<i>Isoform0006033</i>	<i>VwMYB67</i>	AT1G21700	R1MYB	783	5.56	86 021.01	细胞核
<i>Isoform0006335</i>	<i>VwMYB68</i>	AT3G16857	R1MYB	669	5.93	72 988.86	细胞核

表 1(续)

基因	重命名	同源拟南芥 基因模型 ID	MYB 类型	蛋白性质			亚细胞定位
				蛋白长度(aa)	等电点	分子量(u)	
<i>Isoform0006375</i>	<i>VwMYB69</i>	AT3G16857	R1MYB	668	5.97	73 141.72	细胞核
<i>Isoform0007112</i>	<i>VwMYB70</i>	AT5G56840	R1MYB	184	9.62	20 136.68	细胞核
<i>Isoform0007315</i>	<i>VwMYB71</i>	AT3G12560	R1MYB	674	9.03	73 959.86	细胞核
<i>Isoform0007405</i>	<i>VwMYB72</i>	AT1G07540	R1MYB	702	9.08	77 316.57	细胞核
<i>Isoform0007993</i>	<i>VwMYB73</i>	AT3G16857	R1MYB	656	6.37	71 386.41	细胞核
<i>Isoform0008053</i>	<i>VwMYB74</i>	AT3G16857	R1MYB	641	5.71	70 001.21	细胞核
<i>Isoform0008562</i>	<i>VwMYB75</i>	AT1G26580	R1MYB	538	4.44	59 543.60	细胞质
<i>Isoform0008628</i>	<i>VwMYB76</i>	AT4G39160	R1MYB	372	5.50	41 920.88	细胞核
<i>Isoform0008998</i>	<i>VwMYB77</i>	AT1G21700	R1MYB	771	5.63	85 239.08	细胞核
<i>Isoform0009162</i>	<i>VwMYB78</i>	AT1G09710	R1MYB	622	8.79	65 860.61	细胞核
<i>Isoform0010126</i>	<i>VwMYB79</i>	AT1G13880	R1MYB	348	4.73	39 075.09	细胞核
<i>Isoform0010585</i>	<i>VwMYB80</i>	AT1G26580	R1MYB	533	4.48	59 523.28	细胞核
<i>Isoform0010678</i>	<i>VwMYB81</i>	AT5G13820	R1MYB	674	9.02	74 254.15	细胞核
<i>Isoform0011753</i>	<i>VwMYB82</i>	AT3G16857	R1MYB	649	5.94	71 359.71	细胞核
<i>Isoform0012658</i>	<i>VwMYB83</i>	AT3G16857	R1MYB	668	5.87	72 302.21	细胞核
<i>Isoform0012792</i>	<i>VwMYB84</i>	AT3G57980	R1MYB	675	9.34	75 203.44	细胞核
<i>Isoform0013669</i>	<i>VwMYB85</i>	AT1G72650	R1MYB	676	5.63	73 698.08	细胞核
<i>Isoform0016545</i>	<i>VwMYB86</i>	AT2G25180	R1MYB	647	6.53	70 540.98	细胞核
<i>Isoform0017236</i>	<i>VwMYB87</i>	AT3G57980	R1MYB	455	5.83	51 142.77	细胞外
<i>Isoform0017270</i>	<i>VwMYB88</i>	AT3G57980	R1MYB	664	9.67	73 166.60	细胞核
<i>Isoform0021341</i>	<i>VwMYB89</i>	AT4G16420	R1MYB	557	6.50	62 560.65	细胞核
<i>Isoform0025748</i>	<i>VwMYB90</i>	AT1G32240	R1MYB	362	9.14	40 811.23	细胞核
<i>Isoform0026081</i>	<i>VwMYB91</i>	AT1G08810	R1MYB	119	8.76	13 945.77	细胞质
<i>Isoform0026342</i>	<i>VwMYB92</i>	AT3G10760	R1MYB	321	6.42	34 328.37	细胞核
<i>Isoform0031769</i>	<i>VwMYB93</i>	AT2G33610	R1MYB	499	5.89	55 302.17	线粒体
<i>Isoform0032673</i>	<i>VwMYB94</i>	AT1G32240	R1MYB	391	9.58	44 293.69	细胞核
<i>Isoform0033592</i>	<i>VwMYB95</i>	AT5G52660	R1MYB	364	7.72	39 570.27	细胞核
<i>Isoform0033847</i>	<i>VwMYB96</i>	AT5G17300	R1MYB	416	5.81	46 370.58	细胞核
<i>Isoform0035565</i>	<i>VwMYB97</i>	AT1G25550	R1MYB	156	9.51	17 263.11	细胞核
<i>Isoform0037086</i>	<i>VwMYB98</i>	AT3G21430	R1MYB	1 139	8.93	126 317.25	细胞核
<i>Isoform0038163</i>	<i>VwMYB99</i>	AT3G09600	R1MYB	288	6.84	31 423.58	细胞核
<i>Isoform0038467</i>	<i>VwMYB100</i>	AT1G25550	R1MYB	357	6.29	39 805.02	细胞核
<i>Isoform0038548</i>	<i>VwMYB101</i>	AT2G38300	R1MYB	368	9.60	41 347.08	细胞核
<i>Isoform0038586</i>	<i>VwMYB102</i>	AT1G49950	R1MYB	285	9.77	31 551.14	细胞核
<i>Isoform0038637</i>	<i>VwMYB103</i>	AT3G09600	R1MYB	329	6.63	35 423.13	细胞核
<i>Isoform0039363</i>	<i>VwMYB104</i>	AT2G02060	R1MYB	329	8.00	36 755.99	细胞核
<i>Isoform0039532</i>	<i>VwMYB105</i>	AT2G03500	R1MYB	403	6.77	44 577.63	细胞核
<i>Isoform0039590</i>	<i>VwMYB106</i>	AT3G09600	R1MYB	273	7.55	30 099.15	细胞核
<i>Isoform0041252</i>	<i>VwMYB107</i>	AT3G16350	R1MYB	394	6.71	42 654.20	线粒体
<i>Isoform0041841</i>	<i>VwMYB108</i>	AT2G01060	R1MYB	327	6.27	35 491.76	细胞核
<i>Isoform0042110</i>	<i>VwMYB109</i>	AT5G47390	R1MYB	332	6.34	36 083.78	线粒体
<i>Isoform0042159</i>	<i>VwMYB110</i>	AT5G15310	R1MYB	415	5.66	45 979.54	细胞核
<i>Isoform0042294</i>	<i>VwMYB111</i>	AT3G16350	R1MYB	409	6.74	43 849.13	线粒体
<i>Isoform0042301</i>	<i>VwMYB112</i>	AT3G16857	R1MYB	321	8.47	35 856.36	细胞质
<i>Isoform0043599</i>	<i>VwMYB113</i>	AT1G25550	R1MYB	338	6.25	37 578.55	细胞核
<i>Isoform0045372</i>	<i>VwMYB114</i>	AT1G72740	R1MYB	304	8.64	33 297.46	细胞核
<i>Isoform0045877</i>	<i>VwMYB115</i>	AT1G19000	R1MYB	271	9.51	30 078.65	细胞核

表 1(续)

基因	重命名	同源拟南芥 基因模型 ID	MYB 类型	蛋白性质			亚细胞定位
				蛋白长度(aa)	等电点	分子量(u)	
<i>Isoform0046052</i>	<i>VvMYB116</i>	AT1G70000	R1MYB	286	8.31	30 808.08	细胞核
<i>Isoform0046475</i>	<i>VvMYB117</i>	AT4G13640	R1MYB	306	6.09	33 067.51	细胞核
<i>Isoform0048552</i>	<i>VvMYB118</i>	AT1G72740	R1MYB	260	8.61	28 770.61	细胞核
<i>Isoform0053759</i>	<i>VvMYB119</i>	AT4G34430	R1MYB	1 028	5.06	112 809.32	细胞核
<i>Isoform0053927</i>	<i>VvMYB120</i>	AT4G34430	R1MYB	1 008	4.76	109 085.29	细胞核
<i>Isoform0054589</i>	<i>VvMYB121</i>	AT4G34430	R1MYB	988	4.73	106 937.88	细胞核

2.3 三色堇 MYB 保守基序分析

对 121 个三色堇 MYB 转录因子进行保守基序分析,获得 20 种保守 motif 元件(图 1),其中分布频次最高的是 motif2 (15.2%),其次是 motif4 (12.6%),最低的是 motif20 (0.3%)(图 2)。不同 MYB 蛋白的 motif 数量与分布存在差异,多数 motif 元件分布在 N 端,少数(如 motif9)分布在 MYB 的 C 端,同一个亚组的基因具有相似基序,根据亲缘性说明其具有相似功能,同时序列所含 motif 数量、类型与分布存在不同,表明不同基因功能之间具有差异,也存在一些高频率基序,如 motif 2 几乎存在于每一个亚组中,反映这个基序对 VwMYB 蛋白功能具有重要性。

R2 和 R3 的保守结构域是识别 MYB 序列所必需的,通过 WebLogo 对三色堇的 57 个 R2R3MYB 序列位点信息进行分析,从图 3 中可看出,三色堇 R2R3-MYB 类转录因子结构域存在 R2R3MYB 特有的 W 型保守氨基酸,R2 MYB 与 R3 MYB 的结构域均含有 52 个氨基酸残基,R2 MYB 包含 3 个高度保守的色氨酸残基(W)(图 3-A),R3 MYB 第 1 个色氨酸(第 925 位)被亮氨酸(L)所取代(图 3-B),只有 2 个色氨酸残基(W)。三色堇保守结构域特点与已报道拟南芥、辣椒、梨等物种一致^[13]。

2.4 三色堇 R2R3 型 MYB 家族进化分析

将三色堇 R2R3-MYB 和拟南芥 MYB 蛋白家族进行系统发育分析,根据樊锦涛等对拟南芥 R2R3-MYB 族群的划分依据,对三色堇 R2R3-MYB 类转录因子划分亚群,结果见图 4^[14]。三色堇 R2R3-MYB 类转录因子可划分为 30 个亚群(A1~A30),有 8 个亚群不能与拟南芥聚类,其他 22 个亚群可以聚类到拟南芥 S1、S4、S6、S7、S9、S16、S18、S22、S23 亚群中。聚类在同一个亚群的基因具有较高的同源性与序列相似性,并可能具有类似的功能^[15]。

3 讨论与结论

三色堇没有参考基因组,这限制了对三色堇的深入研究,但利用 3 代测序技术可以快速得到全长转录组,获得植物大部分有效的基因表达信息,是对非模式植物研究的新方法。本研究利用 3 代测序得到三色堇全长转录本,分析得到 121 个 MYB 转录因子,接近已报道玉米基因组分析发现的 132 个 *ZmMYB* 基因^[16],明显高于亚洲百合基于 2 代转录组测序结果发现的 69 个 *LaMYB* 基因^[17],表明 3 代测序获得高质量的 cDNA 全长序列与基因信息,为三色堇 MYB 转录因子研究提供有效参考。

MYB 转录因子 N 端包含保守 DNA 结合域,该结合域由 1~4 个不完全重复序列(R)构成,每个重复序列约 52 个氨基酸,构成 3 个 α -螺旋^[18],其中第 2 和第 3 螺旋(R2 和 R3)形成 HLH(Helix-Loop-Helix)结构与目标基因结合^[19]。本研究获得的三色堇 MYB 转录因子全部包含上述的 R 序列,共有 61 个 1R-MYB、57 个 R2R3-MYB、3 个 3R-MYB 类转录因子,符合 MYB 转录因子基因家族的基本结构特征。在大部分 MYB 转录因子中,N 端保守性更高,C 端序列具有可变性,负责蛋白质活性调节,MYB 转录因子具有通过其保守的 N 端结构域转录调节 C 端结构域参与复杂的生理过程^[20],这与本研究中三色堇 MYB 转录因子的大部分 motif 元件集中、规律地分布在 N 端,少数无规律地分布在 MYB 的 C 端的保守基序结构特点一致,表明 MYB 基因家族可以通过其特殊的保守结构域进行识别以及对基因功能产生影响。

R2R3-MYB 是目前研究最广的转录因子,参与植株生长发育、代谢调节、表皮细胞形态分化等功能调控^[21]。本研究中将三色堇 57 个 R2R3-MYB 与拟南芥共同进行系统发育进化分析,其中一些三色堇转录因子与拟南芥处于同一分支,表明这

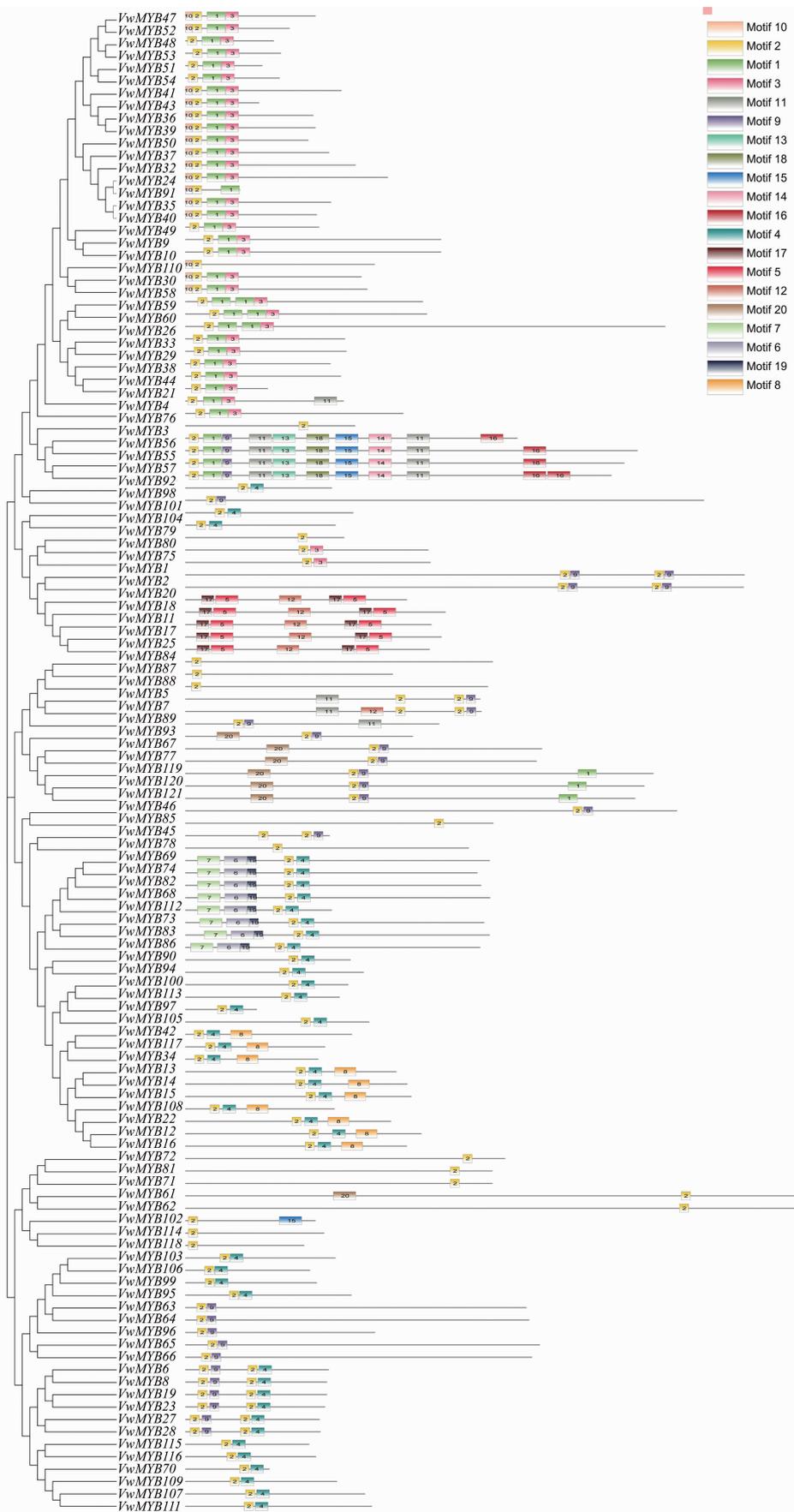


图 1 三色堇 MYB 家族蛋白保守基序的预测

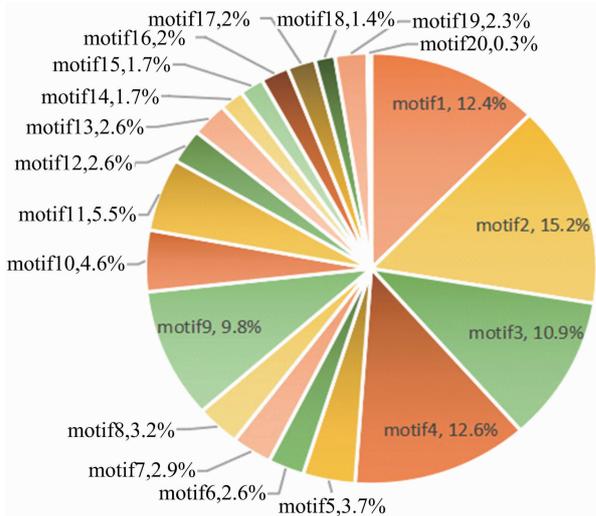


图2 保守基序频次分布

2个物种的MYB基因家族具有部分相同的进化过程。一般来说,聚集在同一个分支的基因亲缘关系相近,其在功能上也具有相似性,如居利香等利用该方法认证多个与辣椒相关的转录因子,其中*CaMYB141*、*CaMYB71*与拟南芥亚组20中的*AtMYB2*聚为一类,认为*CaMYB141*、*CaMYB71*与*AtMYB2*功能相似,均可在干旱条件下增加辣椒素含量^[22]。本研究中,三色堇中的*VwMYB48*、*VwMYB53*、*VwMYB47*、*VwMYB52*与拟南芥亚组4中的*AtMYB3*、*AtMYB4*、*AtMYB7*、*AtMYB32*聚为一类,表明三色堇中*VwMYB48*、*VwMYB53*、*VwMYB47*、*VwMYB52*可能参与植物生长过程中的生物胁迫与非生物胁迫调节过程^[23]。*VwMYB40*、*VwMYB35*与拟南芥亚组1中的*AtMYB30*、*AtMYB96*关系最近,

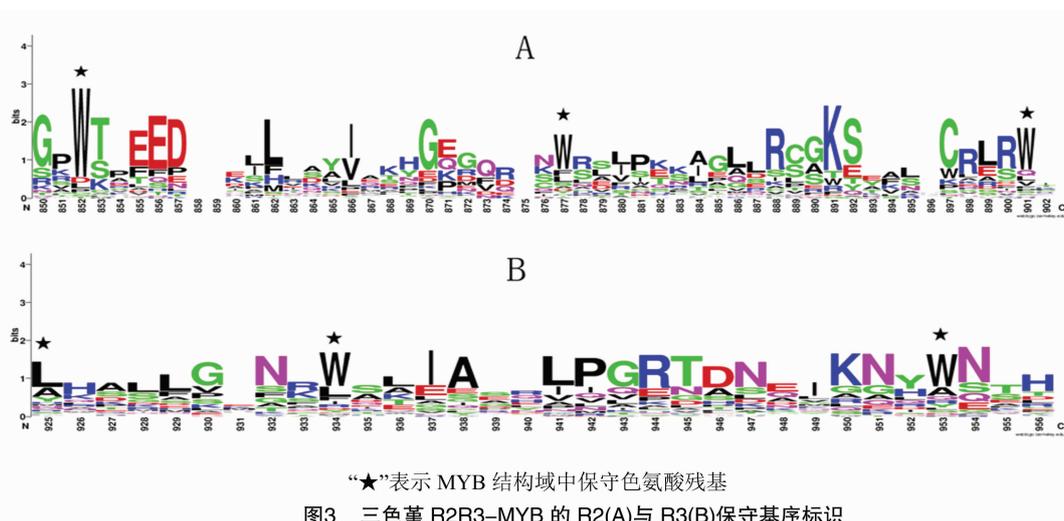


图3 三色堇 R2R3-MYB 的 R2(A)与 R3(B)保守基序标识

AtMYB30、*AtMYB96*与激素调节有关,且主要关于脱落酸与水杨酸,而脱落酸影响花青素的合成^[24],推测三色堇中*VwMYB40*、*VwMYB35*通过调节激素的合成从而影响花青素的合成。同理,三色堇中*VwMYB39*、*VwMYB36*、*VwMYB43*、*VwMYB41*与拟南芥第七亚组中的*AtMYB11*、*AtMYB12*和*AtMYB111*聚为一类,已有研究表明*AtMYB11*、*AtMYB12*、*AtMYB111*与黄酮醇生物合成相关^[25],因此*VwMYB39*、*VwMYB36*、*VwMYB43*、*VwMYB41*也可能参与三色堇中黄酮醇生物合成,调节植物代谢活动。*VwMYB51*、*VwMYB54*与拟南芥亚组6中的*AtMYB75*、*AtMYB90*、*AtMYB113*、*AtMYB114*最相近,而*AtMYB75*、*AtMYB90*、*AtMYB113*、*AtMYB114*是控制植物花青素合成的基因^[26],表明三色堇的花色形成可能受到*VwMYB51*、*VwMYB54*调节,这2个转录因子可能参与三色堇花青素合成^[27]。但是,有一部分

三色堇MYB与拟南芥分支不同,如A1分支不含有任何*AtMYB*,这种转录因子的特异性可能是物种后期进化分离导致^[28]。当然,上述论述只是基于基因结构相似性的推测,是否具有相应的功能及其作用机制,还需要进一步研究阐明。

参考文献:

- [1] Ambawat S, Sharma P, Yadav N R, et al. MYB transcription factor genes as regulators for plant responses: an overview [J]. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 2013, 19(3): 307-321.
- [2] Dubos C, Stracke R, Grotewold E, et al. MYB transcription factors in *Arabidopsis* [J]. *Trends in Plant Science*, 2010, 15(10): 573-581.
- [3] Li C N, Ng C K Y, Fan L M. MYB transcription factors, active players in abiotic stress signaling [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2015, 114: 80-91.
- [4] Lama K, Harlev G, Shafran H, et al. Anthocyanin accumulation is initiated by abscisic acid to enhance fruit color during fig (*Ficus carica* L.) ripening [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2020, 251: 153192.

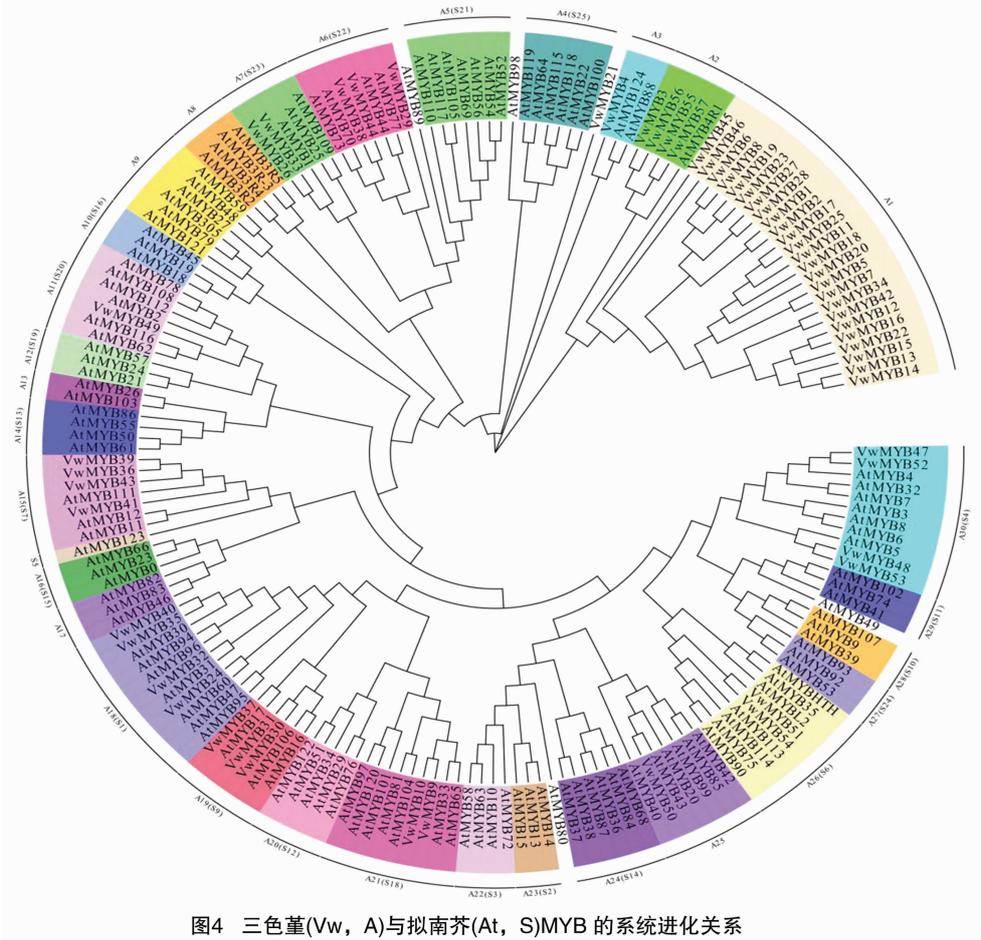


图4 三色堇(Vw, A)与拟南芥(At, S)MYB 的系统进化关系

- [5] Zhuang W B, Shu X C, Lu X Y, et al. Genome-wide analysis and expression profiles of *PdeMYB* transcription factors in colored-leaf poplar (*Populus deltoids*) [J]. BMC Plant Biology, 2021, 21(1): 432.
- [6] Geethalakshmi S, Barathkumar S, Prabu G. The MYB transcription factor family genes in sugarcane (*Saccharum* sp.) [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2015, 33(3): 512-531.
- [7] Wheeler T J, Eddy S R. Nhmmer: DNA homology search with profile HMMs [J]. Bioinformatics, 2013, 29(19): 2487-2489.
- [8] Letunic I, Khedkar S, Bork P. SMART: recent updates, new developments and status in 2020 [J]. Nucleic Acids Research, 2020, 49(D1): D458-D460.
- [9] Mariethoz J, Allocci D, Gastaldello A, et al. Glycomics@Expasy: bridging the gap [J]. Molecular & Cellular Proteomics, 2018, 17(11): 2164-2176.
- [10] Yu C S, Lin C J, Hwang J K. Predicting subcellular localization of proteins for Gram-negative bacteria by support vector machines based on n-peptide compositions [J]. Protein Science, 2004, 13(5): 1402-1406.
- [11] Chen C J, Chen H, Zhang Y, et al. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data [J]. Molecular Plant, 2020, 13(8): 1194-1202.
- [12] Tamura K, Stecher G, Kumar S. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11 [J]. Molecular Biology and Evolution, 2021, 38(7): 3022-3027.
- [13] 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]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 577.
- [14] 樊锦涛, 蒋蔭茜, 邢继红, 等. 拟南芥 R2R3-MYB 家族第 22 亚族的结构与功能 [J]. 遗传, 2014, 36(10): 985-994.
- [15] 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]. Journal of Experimental Botany, 2011, 63(1): 203-214.
- [16] Du H, Feng B R, Yang S S, et al. The R2R3-MYB transcription factor gene family in maize [J]. PLoS One, 2012, 7(6): e37463.
- [17] 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.
- [18] Stracke R, Werber M, Weisshaar B. The R2R3-MYB gene family in *Arabidopsis thaliana* [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2001, 4(5): 447-456.
- [19] Li Q, Zhang C J, Li J, et al. Genome-wide identification and characterization of R2R3MYB family in *Cucumis sativus* [J]. PLoS One, 2012, 7(10): e47576.
- [20] Du H, Yang S S, Liang Z, et al. Genome-wide analysis of the MYB transcription factor superfamily in soybean [J]. BMC Plant Biology, 2012, 12: 106.

陈 盖,温可馨,司 冰. 盐胁迫下园林植物彩叶树响应菌根共生的比较转录组分析[J]. 江苏农业科学,2022,50(22):19-28.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2022.22.003

盐胁迫下园林植物彩叶树响应菌根共生的比较转录组分析

陈 盖¹,温可馨²,司 冰²

(1. 唐山工业职业技术学院,河北唐山 063299; 2. 渭南职业技术学院,陕西渭南 714026)

摘要:土壤盐分是典型的非生物胁迫因素之一,严重影响着植物的生长发育。为了解盐胁迫下鸡爪槭(*Acer palmatum*)对接种丛枝菌根真菌的应答分子机制,对接种丛枝菌根处理(AM)、盐胁迫处理(SS)、盐胁迫接种丛枝菌根处理(AS)及对照处理(CK)进行转录组测序分析。结果表明,基于转录组测序技术(RNA-Seq)测序共获得4 672个新基因;将SS与AS处理进行比较时,鉴定出455个差异表达基因(DEGs),其中286个基因上调表达,169个基因下调表达。对获得的DEGs进行功能注释及富集分析,GO(gene ontology)分析结果表明,盐胁迫下接种丛枝菌根真菌涉及蛋白质生物合成相关过程、ATP生物合成过程、蛋白质谷胱甘肽化、细胞分化调控、氮同化相关过程、呼吸电子传递链以及类胡萝卜素代谢等生物过程。KEGG(kyoto encyclopedia of genes and genomes)富集分析结果表明,主要涉及苯丙烷、黄酮类、二芳基庚烷类及姜酚的次生代谢通路。综合GO、KEGG富集分析结果可知,这些基因主要参与植物细胞内部环境的改善、氮代谢相关过程和宿主光保护机制。实时荧光定量PCR(qRT-PCR)验证表明,挑选的6个DEGs表达趋势与测序结果高度一致,说明测序结果准确可靠。本研究丰富了丛枝菌根真菌对盐胁迫的改善机制,可为后续研究功能分析的耐盐候选基因提供理论依据。

关键词:丛枝菌根真菌;彩叶树;鸡爪槭;差异基因(DEGs);盐胁迫;转录组

中图分类号:S687.01 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2022)22-0019-10

土壤是植物生长发育的重要载体,然而全球范围内超过7%的土地受到不同程度盐胁迫的影响^[1]。盐胁迫是对作物生长发育及产量形成最不利的环境胁迫因子之一,其潜在的分子机制与多种

生物途径和过程有关,包括渗透调节、离子泵、氧化途径以及营养障碍等代谢过程的改变^[2];分子水平上,盐胁迫可限制细胞分裂、DNA扩增,甚至诱导产生基因毒性^[3]。此前的研究发现,植物体具有多种信号转导通路协助植物适应盐胁迫,例如盐胁迫敏感系统(SOS)、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)级联、磷脂酰肌醇(PI)和脱落酸(ABA)介导的信号转导通路^[4]。此外,为应对盐胁迫,分子信号传导可以

收稿日期:2021-12-15

基金项目:陕西省教育厅专项科学研究计划(编号:20JK0639)。

作者简介:陈 盖(1990—),男,河北唐山人,硕士,讲师,研究方向为园林生物技术。E-mail:7153267620@qq.com。

[21] Pesch M, Hülskamp M. One, two, three... models for trichome patterning in *Arabidopsis*? [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2009, 12(5): 587-592.

[22] 居利香,雷欣,赵成志,等. 辣椒MYB基因家族的鉴定及与辣味关系分析[J]. 园艺学报, 2020, 47(5): 875-892.

[23] Dubos C, Le Gourrierec J, Baudry A, et al. MYB12 is a new regulator of flavonoid biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* [J]. The Plant Journal, 2008, 55(6): 940-953.

[24] Raffaele S, Vaillau F, Leger A, et al. A MYB transcription factor regulates very-long-chain fatty acid biosynthesis for activation of the hypersensitive cell death response in *Arabidopsis* [J]. The Plant Cell, 2008, 20(3): 752-767.

[25] 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]. The Plant Journal, 2007, 50(4): 660-677.

[26] 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]. The Plant Journal, 2008, 53(5): 814-827.

[27] Yao G F, Ming M L, Allan A C, et al. Map-based cloning of the pear gene *MYB114* identifies an interaction with other transcription factors to coordinately regulate fruit anthocyanin biosynthesis [J]. The Plant Journal, 2017, 92(3): 437-451.

[28] Nozawa M, Kawahara Y, Nei M. Genomic drift and copy number variation of sensory receptor genes in humans [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007, 104(51): 20421-20426.