

网络出版时间:2026-04-10

网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/61.1359.S.20260409.1102.008

大麦 R2R3-MYB 转录因子家族鉴定及低磷胁迫下 *Hv2RMYB-48* 的功能验证

王长杰^{1,2}, 汪欣瑶^{1,2}, 陈佳佳^{1,2}, 赵娜^{1,2}, 王勇胜^{1,2}, 牛丽^{1,2}, 张宏^{1,2},
姚立蓉^{1,2}, 司二静^{1,2}, 杨轲^{1,2}, 孟亚雄^{1,2}, 马小乐^{1,2}, 王化俊^{1,2}, 汪军成^{1,2}

(1. 甘肃农业大学农学院, 甘肃兰州 730070; 2. 省部共建干旱生境作物学国家重点实验室/甘肃省高校种业产业研究院, 甘肃兰州 730070)

摘要: R2R3-MYB 转录因子家族是 MYB 转录因子中最大亚家族, 在植物多种胁迫响应中扮演重要角色。为了筛选出与磷利用效率相关的 R2R3-MYB 成员, 以最新组装的大麦 MorexV3 基因组对大麦中的 R2R3-MYB 转录因子家族进行了鉴定与生物信息学分析。结果表明, 在大麦 MorexV3 基因组中鉴定出 127 个 R2R3-MYB 基因, 并命名为 *Hv2RMYB-1~Hv2RMYB-127*。这些基因分布于大麦 7 条染色体上, 且启动子区富含激素响应顺式作用元件。理化性质分析, 大多数成员编码酸性且不稳定的蛋白质。通过系统发育及共线性分析将大麦 R2R3-MYB 家族划分为 5 个不同的分支及 16 对串联复制基因。结合转录组数据(RNA-Seq)和实时荧光定量 PCR 技术(qRT-PCR), 发现 10 个大麦 R2R3-MYB 基因在低磷胁迫下均有不同程度的差异性表达, 其中 *Hv2RMYB-48* 显著上调表达。Hv2RMYB-48 定位于细胞核, 可以与 MYB-ABRE-MYB 顺式作用元件进行互作。

关键词: 大麦; R2R3-MYB 转录因子; 低磷胁迫; 生物信息学; 酵母单杂交

中图分类号: S512.3; S330

文献标识码: A

文章编号: 1041(2026)08-1000-14

Identification of the R2R3-MYB Transcription Factor Family in Barley and Functional Verification of *Hv2RMYB-48* under Low-Phosphorus Stress

Wang Changjie^{1,2}, Wang Xinyao^{1,2}, Chen Jiajia^{1,2}, Zhao Na^{1,2}, Wang Yongsheng^{1,2}, Niu Li^{1,2},
Zhang Hong^{1,2}, Yao Lirong^{1,2}, Si Erjing^{1,2}, Yang Ke^{1,2}, Meng Yaxiong^{1,2}, Ma Xiaole^{1,2},
Wang HuaJun^{1,2}, Wang Juncheng^{1,2}

(1. College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China; 2. State Key Lab of Aridland Crop Science/
Seed Industry Institute of Gansu Provincial University, Lanzhou, Gansu 730070, China)

Abstract: The R2R3-MYB transcription factor family, the largest subfamily of MYB transcription factors, plays critical roles in various plant stress responses. However, its function under low-phosphate (P) stress remains poorly characterized. In this study, a total of 127 R2R3-MYB genes were identified in the barley MorexV3 genome using bioinformatic approaches and designated as *Hv2RMYB-1* to *Hv2RMYB-127*. These genes were predominantly distributed on the 7 barley chromosomes and were found to harbor hormone-responsive cis-acting elements in their promoter regions. Physicochemical analysis revealed that most members encode acidic and unstable proteins. Phylogenetic and collinearity analyses classified the barley R2R3-MYB family into five distinct clades, including 16 pairs of tandemly duplicated genes. Based on transcriptomic data (RNA-Seq) and quantitative real-time PCR (qRT-PCR),

收稿日期: 2025-10-23

修回日期: 2025-11-18

基金项目: 财政部和农业农村部国家现代农业产业技术体系建设专项 (CARS-05-02A-02); 甘肃省现代农业产业技术体系建设项
目 (GSARS07); 甘肃农业大学创新训练项目 (202501076)

第一作者 E-mail: 2589154443@qq.com (王长杰)

通讯作者 E-mail: wanghj@gsau.edu.cn (王化俊); wangjc@gsau.edu.cn (汪军成)

10 barley R2R3-MYB genes showed differential expression under low-Phosphorus stress, among which *Hv2RMYB-48* was notably upregulated. Further investigation confirmed that *Hv2RMYB-48* localizes to the nucleus and can bind to the MYB-ABRE-MYB *cis*-element.

Keywords: Barley; R2R3-MYB transcription factor; Low phosphorus stress; Bioinformatics; Yeast one-hybrid analysis

大麦(*Hordeum vulgare* L.)具有耐寒性强、适应性广和易于栽培的特点,在中国主要种植于高海拔地区,包括青海、西藏、四川甘孜藏族自治州和云南的部分区域。作为高海拔地区的主粮作物,裸大麦即青稞对这些地区的粮食安全有重要意义。尽管青稞在中国主要谷物总产量中所占比例相对较小,但它是高海拔农业生态系统重要的组成成分^[1-2]。磷是限制作物生长和发育的主要元素,在糖脂代谢、蛋白质合成、信号转导等多种生物学过程中起着关键作用。挖掘与磷利用效率(PUE)相关的基因对于提高作物的磷利用能力至关重要^[3-4]。转录因子,如 AP2/ERF、WRKY、bHLH、bZIP、MYB 和 NAC,在介导植物适应干旱、盐渍、极端温度、重金属、UV-B 辐射等多种环境胁迫中起着关键作用^[5]。其中,MYB 转录因子是植物中最大的转录因子家族之一,作为核心调控因子参与了众多植物的生物学过程^[6]。MYB 转录因子的特征在于其保守的 DNA 结合域,该结构域通常由 1~4 个相邻的重复序列组成,每个重复序列包含约 52 个氨基酸残基。根据重复序列的数量,它们被分为 4 种类型:1R-MYB、R2R3-MYB、3R-MYB 和 4R-MYB^[7]。R2R3-MYB 亚家族是 MYB 家族中成员最多的类群,因其 C 端具有转录激活结构域,在细胞分化、激素信号转导、次生代谢以及胁迫响应中的作用已被广泛研究^[8-9]。例如,在大豆中,R2R3-MYB 型转录因子 GmMYB3a 能够调控异黄酮、类黄酮和苯丙烷代谢途径中的关键基因,特别是查尔酮合成酶基因 *CHS7* 和 *CHS8*。过表达 *GmMYB3a* 能显著增加异黄酮的积累^[10]。类似地,杨树 *PsnMYB108* 在盐胁迫下的根和叶中显著上调表达。在烟草中异源表达 *PsnMYB108* 提高了植株的耐盐性,证明了其在胁迫适应中的功能^[11]。此外,水稻 *OsMYB1* 为 R2R3-MYB 转录因子,在低磷胁迫下,*OsMYB1* 突变体表现出磷吸收与积累增加、磷转运蛋白及部分磷信号基因表达改变,并以磷依赖方式调控主根和侧根伸长。这表明 R2R3-MYB 转录因子在磷酸盐饥饿信号中起关键作用,为理解植物营养胁迫与其他信号通路交叉对话提供了新视角^[12]。

植物为应对磷酸盐饥饿(PSR),进化出了多方面的适应性策略。其中,形态学机制表现为延迟芽发育、增加根毛密度和增强根伸长;生理生化水平上表现出碳水化合物积累并向根部转运、酸性磷酸酶活性增加以及类黄酮合成增强^[13]。随着分子生物学技术的发展,许多参与植物磷稳态的基因得以鉴定和功能表征,其中包括 MYB 转录因子、PHR 转录因子、PHT 转运蛋白、SPX 蛋白以及 miRNA399,这些组分相互作用,形成了一个复杂的系统和局部信号网络,协同调控植物体内的磷平衡^[14]。例如,在小麦中,TaTCP6 作为一种磷高效蛋白,其被硝酸盐激活下可直接诱导氮利用相关基因,并通过竞争性结合 Ta-SPX1/4 来释放 TaPHR2。TaTCP6 与 TaPHR2 之间的相互作用增强了下游基因的反式激活,最终通过 TCP6-SPX-PHR2 调控模块激活磷饥饿响应基因^[15]。在丹参中,*SmPHR7* 积极响应磷酸盐饥饿。在拟南芥中过表达 *SmPHR7* 能显著激活低磷胁迫响应基因的转录,并最终赋予植株更强的低磷耐受性^[16]。植物根系表型及生理的变化是响应低磷胁迫的主要方式之一,许多植物通过与其内生微生物的相互作用来增强磷的吸收。据报道,一种黄杆菌菌株(C2)在低磷条件下可以激活亚油酸代谢以促进根系栓质合成,从而改善植物的磷吸收^[17]。在玉米的研究中,生长素响应因子 *ZmARF1* 正向调控 *ZmPHR1*; 2,沉默 *ZmARF1* 导致根系发育受损,包括根尖变短、根数量、根体积和根表面积减少,表明 *ZmARF1* 是根系构型和低磷耐受性的关键调控因子^[18]。此外,研究发现 *ASR* 基因参与水稻的磷酸盐稳态。沉默 *O_sASR* 延迟了不定根和侧根的发育,并改变了根系发育和磷酸盐饥饿响应相关基因的表达,突显了其在调控水稻根系构型和营养感应中的作用^[19]。

R2R3-MYB 转录因子家族已在多种植物中得到鉴定和相关功能研究,包括白菜(*Brassica campestris* L.)^[20]、藜麦(*Chenopodium quinoa* Willd.)^[21]、甜菊(*Stevia rebaudiana*)^[22]和枇杷(*Eriobotrya japonica* Lindl.)^[23]。这些已鉴定的 R2R3-MYB 成员大多被证实参与植物对生物

和非生物胁迫的响应。然而,大麦中该基因家族的研究仍然有限。本研究以最新组装的大麦 MorexV3 基因组对大麦中的 R2R3-MYB 转录因子家族进行了鉴定与生物信息学分析,参考低磷胁迫下的转录组数据对候选基因进行定量 PCR (qRT-PCR)分析,旨在筛选出与磷利用效率相关的 R2R3-MYB 成员,为大麦 R2R3-MYB 转录因子的功能研究奠定资源基础,并为应对作物磷肥效率相关的全球性挑战提供新的视角。

1 材料与方法

1.1 植物材料和生长条件

供试材料为磷高效大麦品种 GN121 和磷敏感大麦品种 GN42,种子由于干旱生境作物逆境生物学国家重点实验室与甘肃省作物遗传改良与种质创新重点实验室提供。每个品种取 80 粒种子,用 1%次氯酸钠溶液表面消毒 10~12 min,随后用无菌水冲洗 5~6 次(每次 2 min)。将种子置于萌发盒中,黑暗培养 3 d。待种子萌发后,转移至人工气候室继续培养 2 d。每个品种选取 50 株萌发一致的幼苗,移栽至水培箱中。普通水培 2 d 后,每个品种各取 15 株幼苗使用 Hoagland 低磷营养液培养($0.039 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$),其余幼苗用 Hoagland 正常磷浓度($0.39 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)营养液培养。低磷处理具体方案(试剂类型、浓度及施用程序)参照宋美妮的研究^[24]。在处理开始后 0、3、7 和 18 d 分别采集根系和地上部样品。用滤纸轻轻吸干大麦根系表面水分,使用无菌剪刀将根系与地上部分离,以尽量减少组织损伤。样品迅速放入预冷的 10 mL 冻存管中,于液氮中速冻,每个品种每个处理每个时间点设 3 个生物学重复。所有样品均保存于 -80°C 超低温冰箱以备后续分析。大麦培养期间,培养条件控制在 25°C 、相对湿度 60%。除初始黑暗萌发阶段外,所有光期培养的光照强度均为 $300 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。

1.2 大麦 R2R3-MYB 转录因子家族成员的全基因组鉴定

本研究参照先前 R2R3-MYB 家族成员鉴定的方法^[25],从 Ensembl Plants 数据库(<http://plants.ensembl.org/>)获取大麦 MorexV3 基因组文件。拟南芥 R2R3-MYB 家族成员的参考蛋白序列来自 TAIR 数据库,水稻的 117 个新鉴定 R2R3-MYB 序列来自 RICE 数据库。首先以拟南芥和水稻的序列作为比对序列,通过本地 BLAST 分析对大麦 MorexV3 基因组进行初选,

以确定大麦中候选的 R2R3-MYB 基因。此外,从 PFAM 在线数据库下载 Myb_DNA-binding (PF00249)的隐马尔可夫模型(HMM)配置文件,并使用 HMMER V3.4 对大麦基因组进行筛选。两种方法的 E 值均设置为 1×10^{-5} 。将通过本地 BLAST 和 HMM 搜索得到的候选序列合并并去除重复成员。利用 NCBI-CDD、SMART 和 PFAM 数据库通过分析剩余候选基因的保守结构域进行进一步验证,仅保留包含典型 R2R3-MYB 结构域的蛋白质,最终得到大麦 R2R3-MYB 家族成员。

1.3 大麦 R2R3-MYB 基因家族成员的染色体定位、共线性、理化性质与系统发育分析

从 Ensembl Plants 数据库获取大麦、拟南芥和小麦的基因组注释文件(GFF3 格式)。从注释文件中提取已鉴定的大麦 R2R3-MYB 家族成员的染色体位置信息并进行系统命名。使用 One Step MCScanX-Superfast 进行种内和种间共线性分析,以明确大麦、拟南芥和小麦之间的共线性关系。利用 TBtools 软件中的 Gene Location Visualize、Advanced Circos 和 Multiple Synteny Plot 功能对获得的序列进行可视化。使用 TBtools 软件中的 Protein Parameter Calc 模块计算大麦 R2R3-MYB 蛋白的理化性质,包括氨基酸数量、分子量、理论等电点、不稳定性指数、脂肪族指数和平均亲水性。系统发育分析使用 MEGA 11 中的 ClustalW 对大麦和拟南芥的 R2R3-MYB 成员蛋白序列进行比对,手动优化比对结果以提高保守残基的匹配度,采用邻接法(neighbor-joining, NJ)构建系统发育树,设置 1 000 次 Bootstrap 重复,其他参数保持默认。将生成的 Newick 文件导入 Evoview 在线平台进行可视化。

1.4 大麦 R2R3-MYB 家族成员的基因结构、保守基序及启动子顺式作用元件分析

利用大麦基因组注释文件和蛋白序列文件,使用 TBtools 软件提取 R2R3-MYB 家族成员的蛋白序列及其转录起始位点上游 2 000 bp 的启动子区域。将蛋白序列提交至 MEME 在线平台(<http://meme.suite.org/>)进行保守基序预测,设置最大基序数为 10,其他所有参数保持默认值。将启动子序列上传至 Plant-CARE 在线数据库(<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>)进行顺式作用调控元件的鉴定。将 MEME 输出的 XML 结果文件与基因组注释文件(GFF3 格式)一同导入 TBtools 软件,用于

基序分布的可视化展示。对从 Plant-CARE 在线数据库获得的顺式作用元件数据进行分类、统计汇总,并使用 Origin 2024 软件进行可视化。

1.5 大麦 R2R3-MYB 家族成员在低磷胁迫下的表达模式及 qRT-PCR 分析

为研究低磷胁迫下大麦 R2R3-MYB 家族成员的表达模式,从大麦表达数据库(barleyexp.com)获取了低磷胁迫下 GN121 和 GN42 品种根系的转录组数据(登录号:PRGNA430281)。根据先前研究的方法^[24],使用 $\log_2(\text{FPKM}+1)$ 对转录组数据进行标准化,并使用 ChiPlot 在线平台对所得表达数据进行可视化。为进行定量 qRT-PCR 验证,使用试剂盒(TIANGEN, DP432)在不同处理条件下从两个大麦品种的根组织中提取总 RNA,每个处理设置 3 个生物学重复。所有操作均在严格无菌和无核酸酶条件下进行。使用梯度 PCR 仪合成第一链 cDNA(TIANGEN, DCP119),并用无 RNase 的 ddH₂O 稀释至 $150 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 。使用 $1 \mu\text{L}$ cDNA 作为模板,混合反应体系包含 $2 \times \text{SuperReal PreMix Plus}$ 和 $50 \times \text{ROX Reference Dye}$ (天根, FP-205)。以大麦 *Actin*、*EF-1 α* 和 *GAPDH* 为内参基因,在 Roche LightCycler[®] 96 仪器上对反应体系进行 40 个循环的扩增,采用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法计算相对表达量,使用 GraphPad Prism 10 软件生成图表。

1.6 亚细胞定位与启动子元件互作验证

本研究参照邓玉荣瞬时转化烟草亚细胞定位方法^[26],采用 pCAMBIA2300-35S-eGFP 载体构建含目的基因的重组质粒,将重组质粒导入根癌农杆菌,活化培养菌液后注射至烟草叶片背面。侵染后的叶片暗培养 48~72 h,温度保持 23 °C,湿度保持 50%。期间每 16 h 用荧光显微镜进行初步荧光观察,一旦检测到强绿色荧光信号,进一步使用激光扫描共聚焦显微镜进行亚细胞定位分析:以 488 nm 激发叶绿体自发荧光,在 640 nm 波长下检测 GFP 信号。图像以单通道及合并通道形式输出。

互作验证参照酵母单杂试剂盒实验流程(Coolaber, YH1001)。本研究通过 JASPAR 网站(<https://jaspar.elixir.no/>)预测出 MYB-ABRE-MYB 为 MYB 转录因子的结合元件,通过基因合成技术获得该序列并构建到 pAbAi 载体,再构建包含目的基因的 pGADT7 重组质粒。将经 BstBI

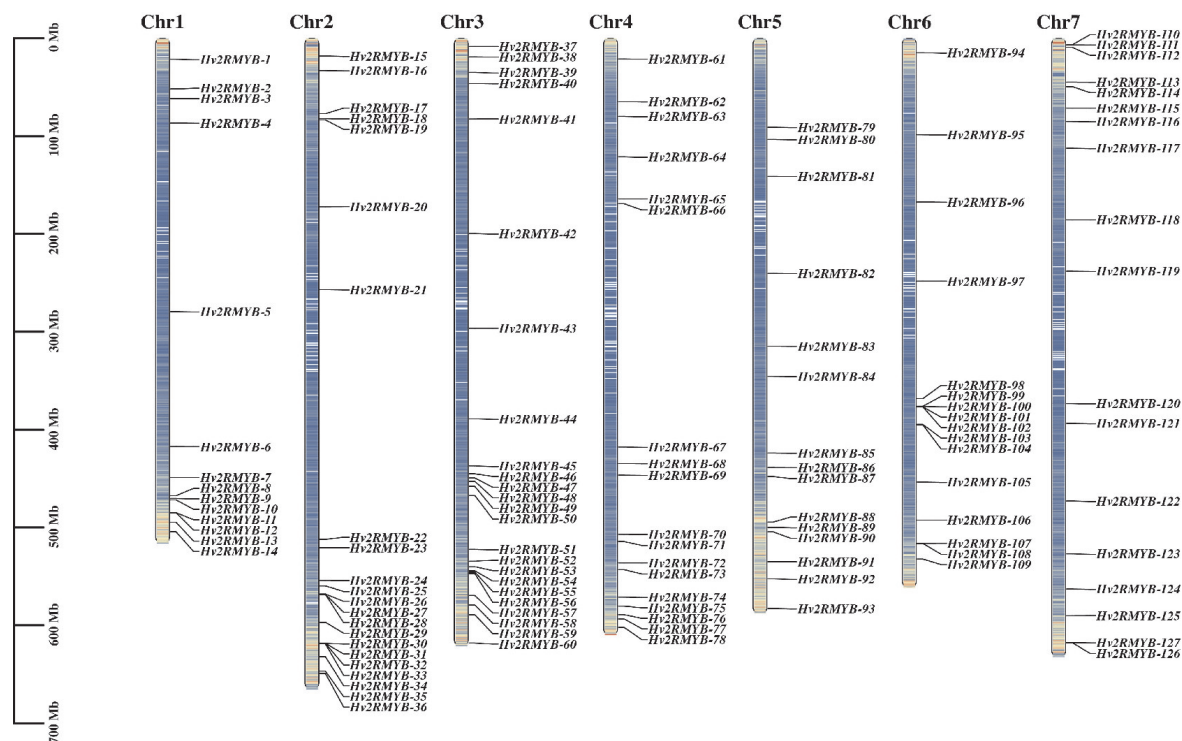
线性化处理的 Bait-pAbAi 质粒转化至 Y1HGold 酵母菌株中,获得含有诱饵载体的阳性克隆。为确定后续筛选所需的最低 Aureobasidin A(AbA)工作浓度,将所得酵母菌液稀释至 OD₆₀₀ 为 0.002,涂布于含不同浓度 AbA 的 SD/-Ura 平板上进行自激活检测,确定可完全抑制背景生长的最低有效 AbA 浓度。随后,将验证成功的阳性酵母克隆制备为感受态细胞,转入包含目的基因的 pGADT7 重组质粒进行互作验证实验。

2 结果与分析

2.1 大麦 R2R3-MYB 家族成员的全基因组鉴定、染色体定位及理化性质分析

通过多轮筛选鉴定,在大麦中共鉴定出 127 个 R2R3-MYB 家族成员(图 1)。参考水稻 R2R3-MYB 家族成员按照染色体定位的前后位置所命名的 *OsMYB2-1* ~ *OsMYB2-117* 形式^[25],将大麦 R2R3-MYB 家族成员命名为 *Hv2RMYB-1* ~ *Hv2RMYB-127*,这 127 个大麦 R2R3-MYB 基因分布在大麦的 7 条染色体上。其中,大麦染色体 1H 包含 14 个成员(*Hv2RMYB-1*~*Hv2RMYB-14*),染色体 2H 包含 22 个成员(*Hv2RMYB-15*~*Hv2RMYB-36*),染色体 3H 包含 24 个成员(*Hv2RMYB-37*~*Hv2RMYB-60*),染色体 4H 包含 18 个成员(*Hv2RMYB-61*~*Hv2RMYB-78*),染色体 5H 包含 15 个成员(*Hv2RMYB-79*~*Hv2RMYB-93*),染色体 6H 包含 16 个成员(*Hv2RMYB-94*~*Hv2RMYB-109*),染色体 7H 包含 18 个成员(*Hv2RMYB-110*~*Hv2RMYB-127*)。

为深入研究该家族成员的分子特征进行蛋白质参数分析。结果(表 1)表明,平均氨基酸数量为 326,平均分子量为 35 597.25 kD,平均理论等电点为 6.703,不稳定指数为 56.05,脂肪族指数为 67.048,总平均亲水性(GRAVY)为 -0.5668。在这些蛋白质中,*Hv2RMYB-88* 的氨基酸数量最多(1 088),分子量最大(121 069.5 kD);而 *Hv2RMYB-5* 的氨基酸数量最少(176),分子量最小(20 206.43 kD)。理论等电点范围为 4.74(*Hv2RMYB-105*)~9.77(*Hv2RMYB-76*)。不稳定指数变化范围为 37.22(*Hv2RMYB-69*)~88.96(*Hv2RMYB-84*)。脂肪族指数范围 51.25(*Hv2RMYB-38*)~84.72(*Hv2RMYB-30*),GRAVY 值范围 -0.972(*Hv2RMYB-92*)~-0.22(*Hv2RMYB-49*)。



Chr1~Chr7 分别代表大麦 7 条染色体;图中不同染色体中红色代表较高的基因密度,蓝色代表较低的基因密度。

Chr1—Chr7 represent the seven chromosomes of barley; In the figure, red indicates higher gene density, while blue indicates lower gene density across different chromosomes.

图 1 大麦 R2R3-MYB 基因家族成员的染色体定位

Fig. 1 Chromosomal localization of the members of barley R2R3-MYB gene family

2.2 大麦 R2R3-MYB 家族成员的基因结构、保守基序及顺式作用元件分析

利用 MEME 软件对大麦 R2R3-MYB 家族成员的保守基序组成进行分析,结果(图 2)显示,各成员包含的基序数量 3~6 个,基序长度范围为 11~41 个氨基酸。其中,Motif 3 的保守性最高,127 个成员全部具有;而 Motif 10 的保守性最低,仅存在于 Hv2RMYB-53、Hv2RMYB-9、Hv2RMYB-35、Hv2RMYB-112、Hv2RMYB-38、Hv2RMYB-8 和 Hv2RMYB-55 这 7 个成员中。为深入解析该家族的基因结构,进一步分析了其外显子-内含子分布情况。结果(图 2)表明,该家族中 67 个成员(52.8%)仅包含外显子,其余 60 个成员(47.2%)同时含有外显子和内含子,且内含子分布均匀。外显子数量 1~13 个,内含子数量 1~3 个。值得注意的是,Hv2RMYB-19 含有 13 个外显子,为家族中最多,暗示其可能具有更为复杂的功能调控潜力。

为探索这些基因的调控机制,利用 PlantCARE 在线数据库分析了转录起始位点上游 2 000 bp 的启动子区序列中的顺式作用元件。参照先

前研究的分类方法^[25],将鉴定出的元件按功能进行分激素响应元件、胁迫响应元件、代谢相关元件和生长和生物过程元件 4 大类。大麦 R2R3-MYB 家族成员的所有启动子中共识别出 1 660 个激素响应元件、1 285 个胁迫响应元件、410 个代谢相关元件以及 268 个参与生长和生物过程的元件(图 3)。这些结果表明,该家族成员对激素和环境刺激具有高度的响应能力。经进一步分析,该家族所拥有的顺式作用元件数量最少为 7 个(Hv2RMYB-42),最多为 56 个(Hv2RMYB-12)。含有更多调控元件的基因可能在转录调控中扮演更广泛的角色。总之,这些发现提示大麦 R2R3-MYB 家族功能多样,并可能对大麦适应各种生长条件和环境胁迫至关重要。

2.3 大麦与拟南芥 R2R3-MYB 家族成员的系统发育与共线性分析

为研究大麦和拟南芥 R2R3-MYB 家族间的进化关系,利用大麦的 127 个成员和拟南芥的 124 个成员构建了系统发育树(图 4)。这 251 个成员根据蛋白序列相似性被划分为 5 个组别:Group I 包含 57

个成员(如 *Hv2RMYB-42*);Group II 包含 51 个成员(如 *AtMYB-111*);Group III 包含 40 个成员(如 *AtMYB-69*);Group IV 包含 56 个成员(如 *Hv2RMYB-109*);Group V 包含 47 个成员(如 *AtMYB-42*)。

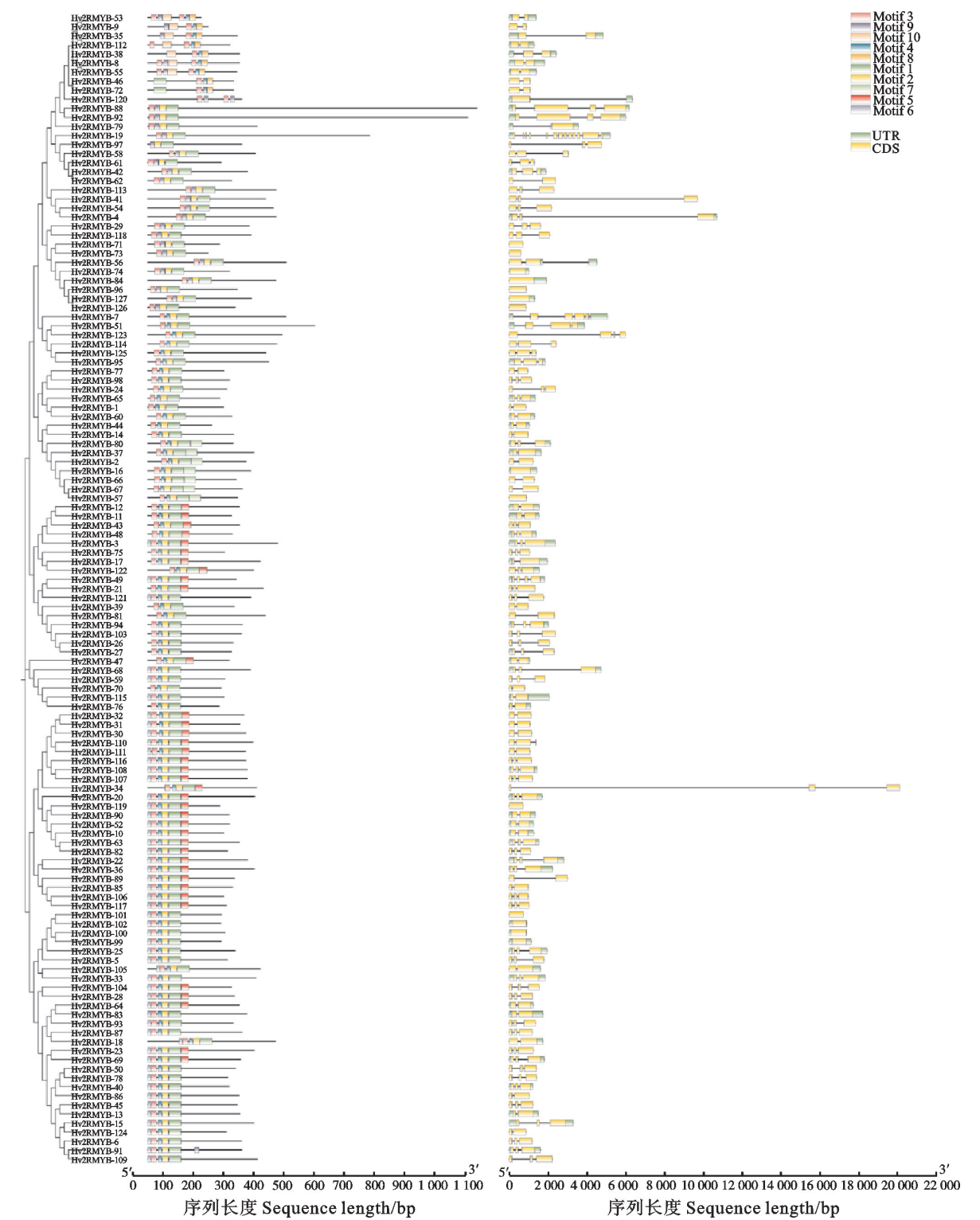


图 2 大麦 R2R3-MYB 家族成员的保守基序及基因结构

Fig. 2 Conserved motifs and gene structures of barley R2R3-MYB family members

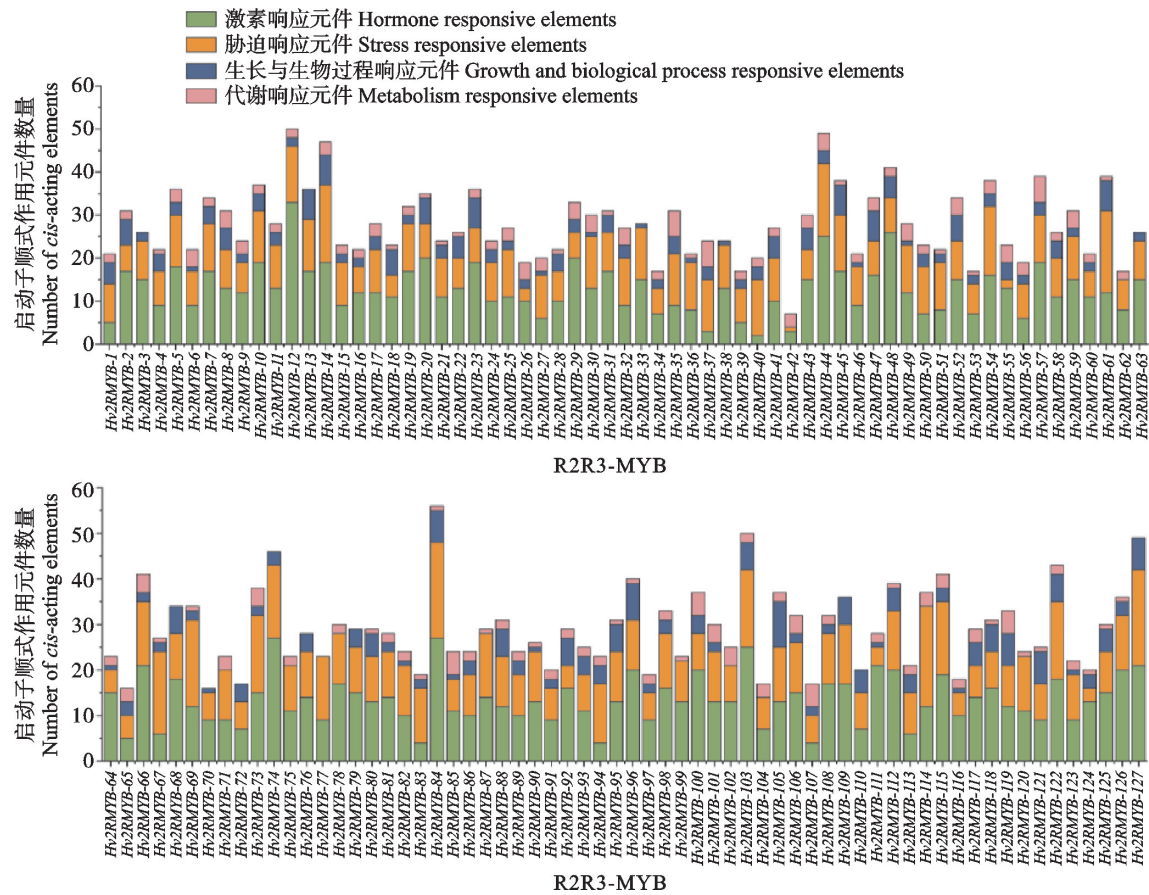
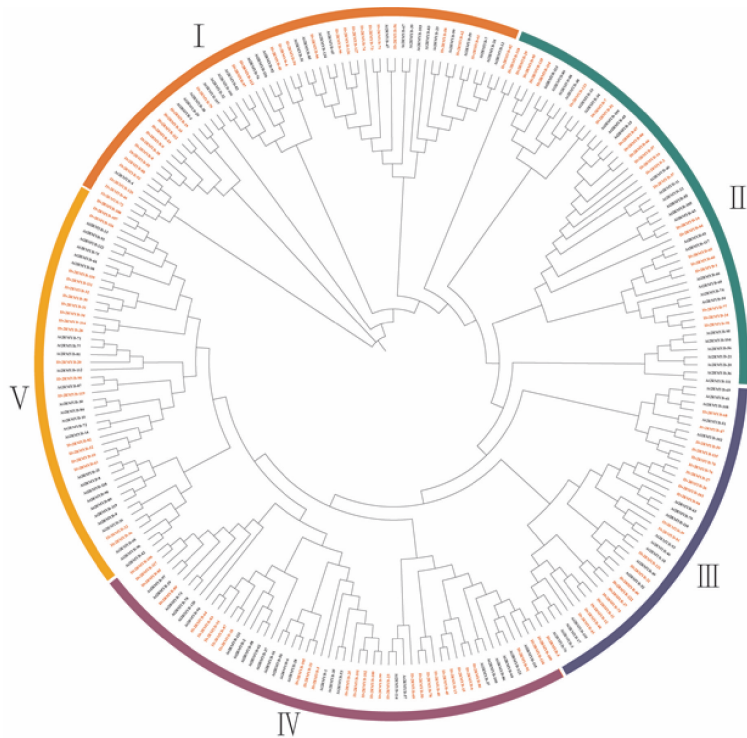


图 3 大麦 R2R3-MYB 家族成员的启动子顺式作用元件分布
Fig. 3 Distribution of promoter *cis*-acting elements among the members of the barley R2R3-MYB family

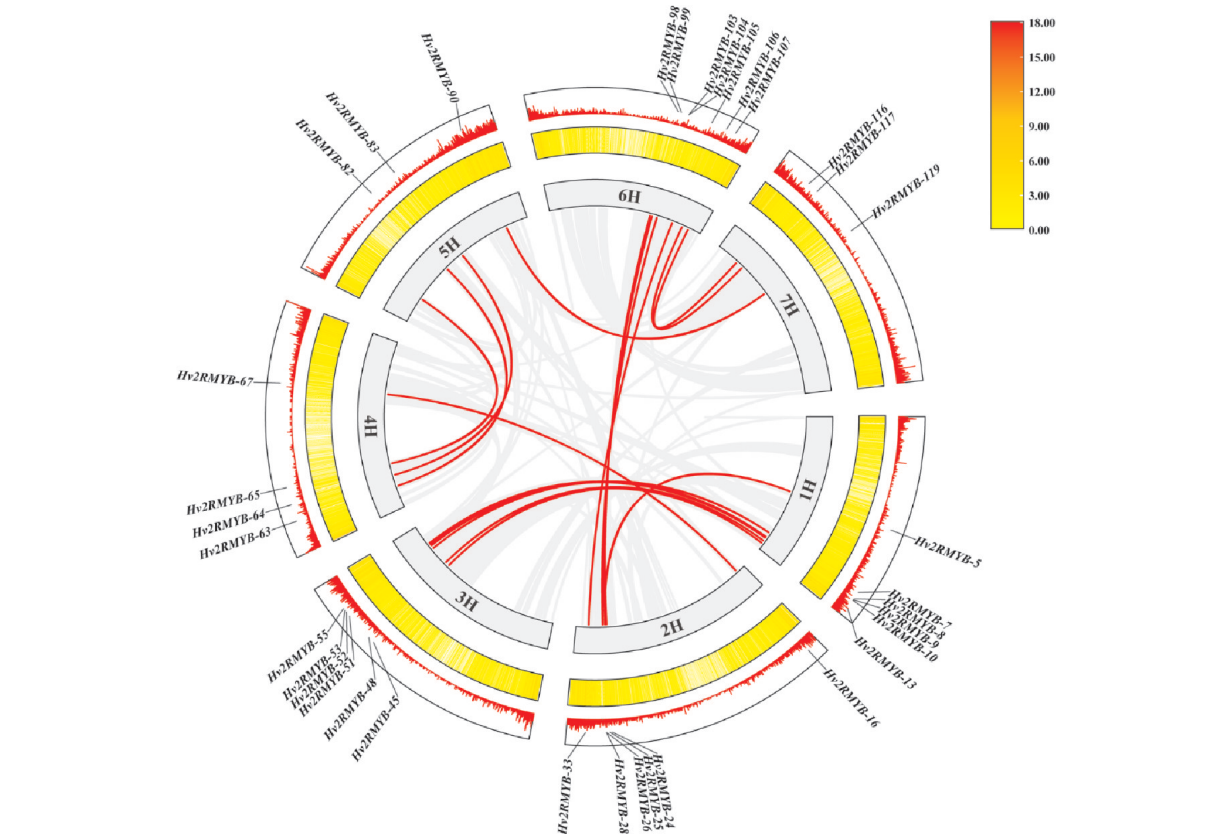


红色: 大麦; 黑色: 拟南芥。
Red: Barley; Black: *Arabidopsis*.

图 4 大麦与拟南芥 R2R3-MYB 家族成员的系统发育树
Fig. 4 Phylogenetic tree of R2R3-MYB family members in barley and *Arabidopsis*

为进一步探究大麦、小麦和拟南芥中 R2R3-MYB 家族的进化模式,利用 MCScanX 进行了种内和种间共线性分析。结果(图 5)显示,35 个大麦 R2R3-MYB 成员(占总数 27.6%)在大麦基因组内表现出共线性。其中,染色体 1H、2H 和 3H 各包含 6 个共线性成员,染色体 4H 有 4 个,染色体 5H 和 7H 最少(各 3 个),染色体 6H 最多(7 个)。值得注意的是,35 个共线性基因中有 16 对

(32 个成员)在大麦内部显示相互共线性,提示这些成员可能具有较近的进化起源和功能相关性。种间共线性分析(图 6)表明,大麦 R2R3-MYB 家族与拟南芥存在 22 个共线性关系,主要分布在大麦染色体 1H~4H 上;相比之下,大麦与小麦之间的共线性程度相对更高(图 6),这可能源于两者在禾本科植物中密切的亲缘关系及作为谷类作物的共同祖先背景。



外圈展示染色体上的基因分布密度,内圈红色曲线则表示家族成员间的共线性关系。
The outer circle illustrates gene density along the chromosomes, while the inner red curves represent collinear relationships among family members.

图 5 大麦 R2R3-MYB 家族成员的共线性分布
Fig. 5 Collinearity distribution of barley R2R3-MYB family members

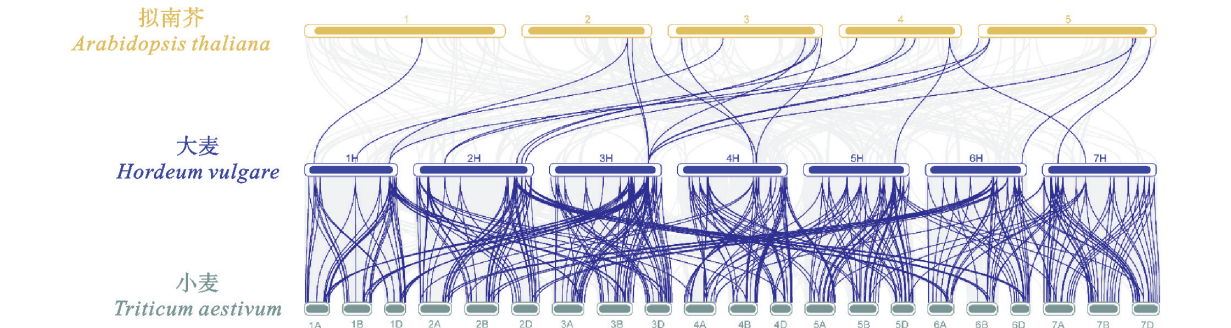


图 6 大麦、小麦和拟南芥的物种间共线性分布
Fig. 6 Interspecies collinearity distribution among barley, wheat, and Arabidopsis

2.4 大麦根系 R2R3-MYB 家族成员在磷胁迫下的表达模式及 qRT-PCR 分析

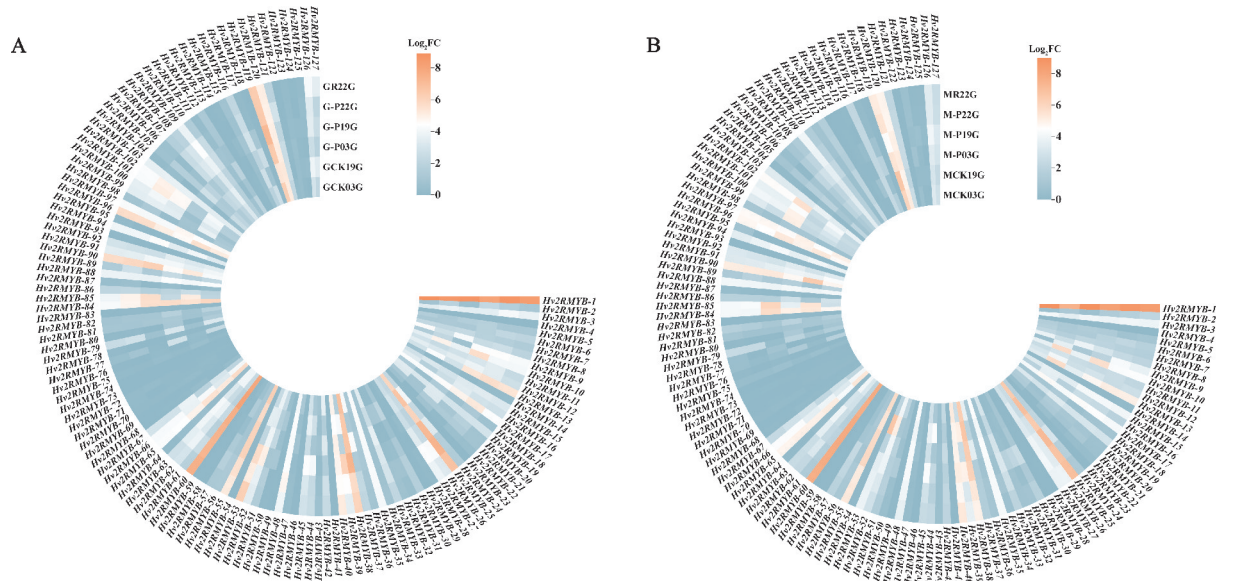
为探究磷胁迫下大麦根系中 R2R3-MYB 家族的表达模式,从大麦表达数据库中获取了该家族成员的表达数据。结果(图 7)表明,大多数成员在磷胁迫条件下均能检测到表达水平,其中低磷胁迫 3 和 19 d 时的变化最为显著。两个被测品种 GN121 和 GN42 的表达趋势存在差异,包括上调和下调,表明该基因家族在磷胁迫适应中发挥响应作用。值得注意的是,两个品种的 *Hv2RMYB-1* 在所有时间点均呈现持续最高的表达量。此外,在磷高效品种 GN121 中, *Hv2RMYB-48* 的表达在磷胁迫下持续增加,而在磷敏感品种 GN42 中其表达量逐渐降低。

基于大麦 R2R3-MYB 家族的系统发育分析,从 5 个进化分支中各随机选取 1 个基因代表该分支的表达水平,再从其余基因中另选取 5 个成员,共得到 10 个候选 R2R3-MYB 基因(*Hv2RMYB-1*、*Hv2RMYB-13*、*Hv2RMYB-35*、*Hv2RMYB-38*、*Hv2RMYB-48*、*Hv2RMYB-55*、*Hv2RMYB-60*、*Hv2RMYB-84*、*Hv2RMYB-96* 和 *Hv2RMYB-119*)。通过 qRT-PCR 对这些基因的表达水平进行验证,发现大多数基因对低磷条件表现出差异性响应(图 8)。在磷高效品种 GN121 中, *Hv2RMYB-*

119 和 *Hv2RMYB-60* 在长期低磷胁迫(0、3、7 和 18 d)下磷持续上调,并在胁迫第 18 天时达到峰值;在低磷效品种 GN42 中,这两个基因的表达量持续下降,在胁迫 18 d 时降至最低。这表明它们的特异性调控可能与品种间磷吸收效率差异有关。*Hv2RMYB-1* 在 GN121 中表达下调,在 GN42 中却上调,且在胁迫 18 d 时表达差异最大。*Hv2RMYB-96* 表达量在两个品种中均持续上升,暗示其可能参与磷利用效率的共同调控机制。*Hv2RMYB-48* 对低磷胁迫响应最为强烈,并与转录组表达趋势一致:在 GN121 中,其在低磷条件下的表达量在 3 个检测时间点(胁迫后 0、3 和 18 d)均显著高于对照;而在 GN42 中,4 个检测时间点的表达量均显著低于对照,突显了其在品种磷效率特异性表现中的独特作用。其他基因也表现出品种特异性;如 *Hv2RMYB-84* 表达在 GN121 中先升后降,在 GN42 中持续下降; *Hv2RMYB-35* 表达在两个品种中均先升后降; *Hv2RMYB-13* 表达在高效品种中无明确趋势且差异不显著,但在低效品种中于胁迫后 0、3 和 18 d 出现显著差异。

2.5 亚细胞定位与串联元件的互作验证

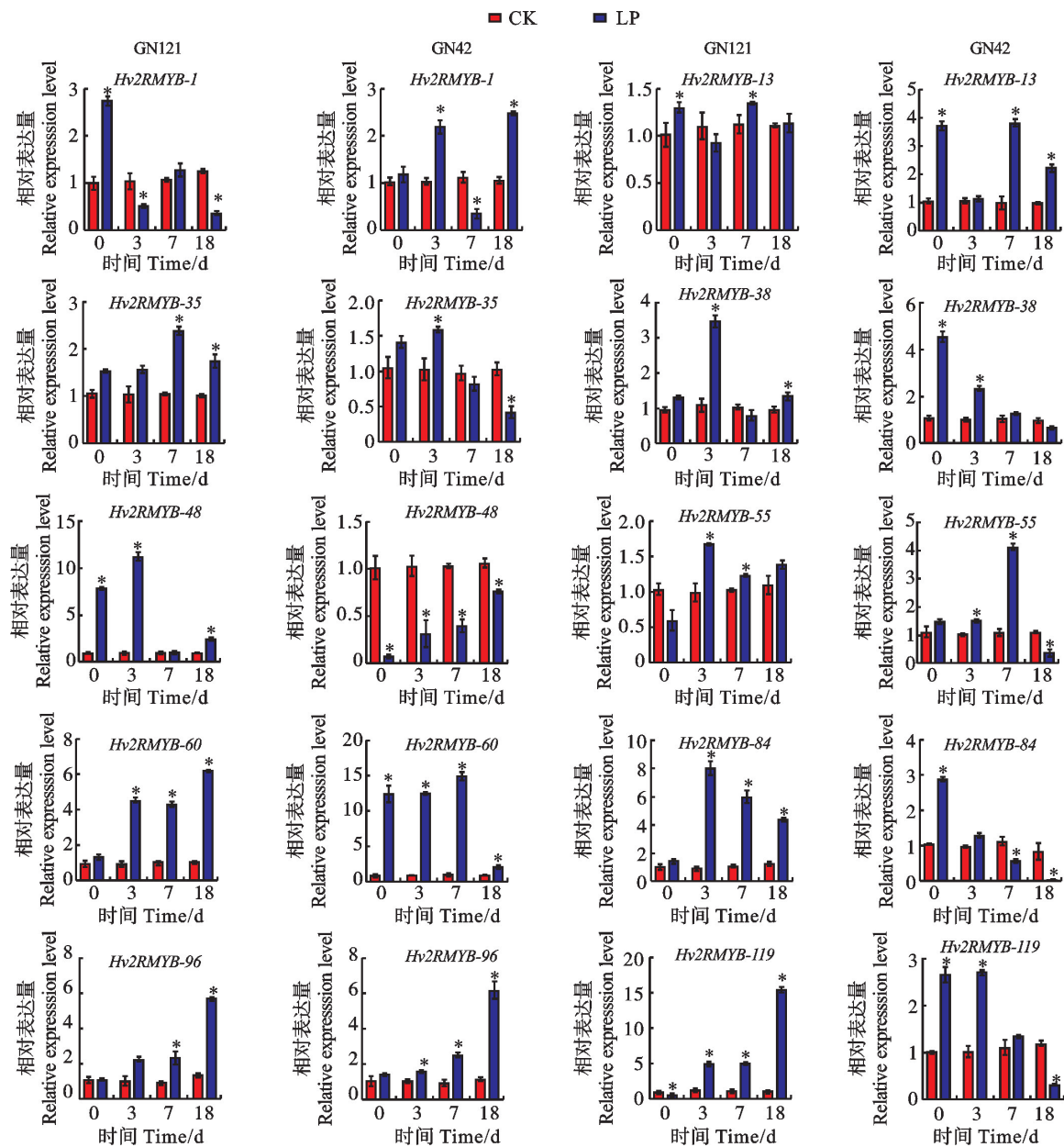
基于 qRT-PCR 分析结果,选择 *Hv2RMYB-48* 作为候选基因进行后续验证。为探究其亚细胞



A: GCK03G 和 19G 代表 GN121 正常磷处理 3 和 19 d, G-P03G、19G 和 22G 代表 GN121 低磷处理 3、19 和 22 d, GR22G 代表 GN121 低磷处理 19 d+恢复处理 3 d; B: MCK03G 和 19G 代表 GN42 正常磷处理 3 和 19 d, M-P03G、19G 和 22G 代表 GN42 低磷处理 3、19 和 22 d, MR22G 代表 GN42 低磷处理 19 d+恢复处理 3 d。
A: GCK03G and GCK19G represent GN121 under normal phosphorus conditions for 3 and 19 days, respectively; G-P03G, G-P19G, and G-P22G denote GN121 subjected to low-phosphorus treatment for 3, 19, and 22 days, respectively; GR22G indicates GN121 treated with low phosphate for 19 days followed by a 3-day recovery period; B: MCK03G and MCK19G corresponds to GN42 under normal phosphorus conditions for 3 and 19 days; M-P03G, M-P19G, and M-P22G refer to GN42 under low-phosphorus treatment for 3, 19, and 22 days, respectively; MR22G signifies GN42 treated with low phosphorus for 19 days followed by a 3-day recovery.

图 7 大麦 R2R3-MYB 家族成员的转录表达模式

Fig. 7 Transcriptional expression patterns of the R2R3-MYB family in barley



CK: 正常磷处理(对照); LP: 低磷处理; *: $P < 0.05$.
CK: Normal phosphorus treatment (control); LP: Low phosphorus treatment; *: $P < 0.05$.

图 8 大麦 R2R3-MYB 家族成员的相对表达
Fig. 8 Relative expression of the barley R2R3-MYB family members

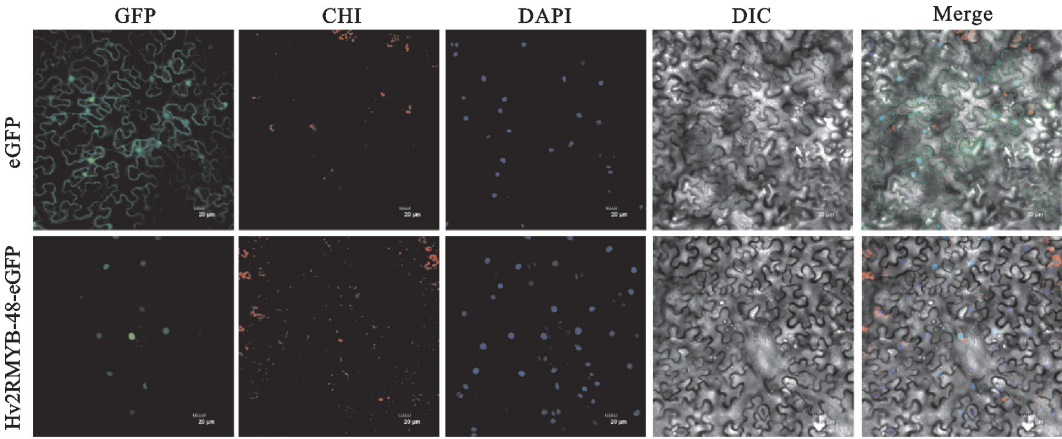
定位,将 *Hv2RMYB-48* 的编码序列(CDS,不含终止子区域)克隆至带有 C 端 eGFP 标签的 pCambia2300-35S 载体中,构建重组质粒 2300-*Hv2RMYB-48*-eGFP。将该质粒在烟草叶片中瞬时表达,利用 DAPI 染色评估亚细胞定位。结果(图 9)显示, *Hv2RMYB-48*-eGFP 融合蛋白特异性定位于细胞核,而空载 eGFP 对照组信号分布于整个细胞,表明 *Hv2RMYB-48* 在细胞核内执行其生物学功能。

将线性化 MYB-ABRE-MYB-pAbAi 重组质

粒转入 Y1H gold 菌株后,涂布在 SD-Ura(设 6 个 AbA 浓度)平板上以验证自激活情况。从图 10A 可看出, AbA 浓度低于 $1\,000\text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 以下时有不同程度菌落生长, AbA 浓度为 $1\,000\text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时完全无菌落长出。因此,对于该实验组, $1\,000\text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 是最低 AbA 浓度。利用 Inter-Pro 在线工具分析了 *Hv2RMYB-48* 的结构域组成。将保留完整 DNA 结合结构域(0~345 bp)的截短形式插入 pGADT7 载体,并将该构建体的重组质粒转入 MYB-ABRE-MYB-pAbAi 感受

态。所有共转化子(包括阳性对照 p-53/Rec-53、阴性对照 MYB-ABRE-MYB-pAbAi/AD-7 以及实验组 AD-Hv2RMYB-48/MYB-ABRE-MYB-pAbAi)在 SD/-Ura 培养基上均正常生长(图 10B),证实转化成功且无细胞毒性效应。然而,

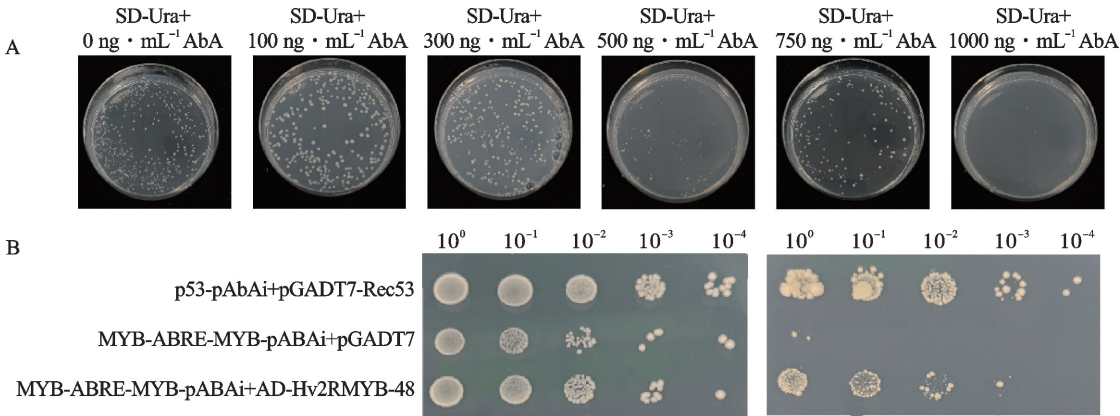
当上述转化子转移至含有 $1\,000\text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ AbA 的 SD/-Ura/-Leu 培养基后,阳性对照和实验组出现生长现象,表明 Hv2RMYB-48 的 DNA 结合结构域与 MYB-ABRE-MYB 顺式作用元件发生互作。



GFP:绿色荧光蛋白;CHI:叶绿体自发荧光;DAPI:核染色剂;DIC:差分干涉对比(明场);Merge:合并通道。激发波长:GFP,488 nm;DAPI,358 nm;CHI,488 nm。GFP 与叶绿体自发荧光共享相同激发波长,但检测于不同发射波长。比例尺=20 μm 。

GFP: Green fluorescent protein; CHI: Chloroplast autofluorescence; DAPI: Nuclear staining; DIC: Differential interference contrast(bright field); Merge: Merged channels. Excitation wavelengths: GFP, 488 nm; DAPI, 358 nm; CHI, 488 nm. GFP and chloroplast autofluorescence share the same excitation wavelength but are detected at different emission wavelengths. Scale bar=20 μm .

图 9 Hv2RMYB-48 的亚细胞定位
Fig. 9 Subcellular localization of Hv2RMYB-48



A: 串联元件在不同浓度 AbA 下的生长情况;B: 串联元件与 Hv2RMYB-48 的互作验证,从上到下分别代表阳性对照、阴性对照和实验组。

A: The growth of serial components under different concentrations of AbA; B: The interaction validation between serial components and Hv2RMYB-48, with the top row representing the positive control, the middle row indicating the negative control, and the bottom row representing the experimental group.

图 10 Hv2RMYB-48 与 MYB-ABRE-MYB 串联元件的互作验证

Fig. 10 Verification of interaction between Hv2RMYB-48 and MYB-ABRE-MYB series components

3 讨论

3.1 大麦 R2R3-MYB 家族成员鉴定与分析

R2R3-MYB 转录因子在植物生长、发育和次生代谢中起着关键作用^[27]。目前,已在多种植物

物种中鉴定出 R2R3-MYB 家族成员,包括小麦 393 个^[28]、水稻 117 个^[25]、马铃薯 111 个^[29]、油橄榄 212 个^[30]、椰子 171 个^[31]、苋菜 73 个^[32]以及红花 102 个^[33]。本研究在大麦中鉴定出 127 个 R2R3-MYB 成员,其中在 3H 染色体上分布的数

量最多,这种家族成员数量的差异可能与植物进化过程中的全基因组复制(WGD)事件有关^[34]。大麦 R2R3-MYB 蛋白的平均总平均亲水性为负值,表明其蛋白表面富含极性和带电氨基酸残基,较高的脂肪族指数提示蛋白质内部存在疏水区域,而相对较高的不稳定性指数则意味着这些蛋白可能参与需要快速调控的过程(胁迫响应或细胞周期控制),这些过程均需要通过控制蛋白质周转以维持功能稳态^[35]。此外,Motif 3 是该家族中最为保守的基序,推测其可能参与 MYB 识别并结合靶基因启动子中的特定顺式作用元件。系统发育及共线性分析将 251 个拟南芥和大麦的 R2R3-MYB 成员划分为 5 个进化分支及 16 对串联重复基因,这种聚类分布模式与橄榄的 17 对重复基因对被划分为 6 个进化支报道相似,间接支持了植物 R2R3-MYB 家族在进化上具有较高的保守性^[30]。本研究在大麦 R2R3-MYB 基因的启动子区发现了丰富的激素响应元件,该现象与水稻中的研究结果一致。这表明,激素信号是 R2R3-MYB 家族是禾本科作物在面对逆境胁迫响应的转录调控中扮演着核心角色^[25]。

3.2 大麦 R2R3-MYB 家族成员尤其 *Hv2RMYB-48* 积极响应低磷胁迫

低磷胁迫显著限制植物生长和农业生产效率。磷作为必需营养元素,参与光合作用、碳水化合物合成以及胁迫条件下抗氧化防御机制增强等关键生理过程。因此,鉴定磷效率相关基因具有重要意义^[36-37]。R2R3-MYB 转录因子参与植物对低磷胁迫的适应性响应^[19]。本研究结果表明,在磷特异性品种中该家族大部分成员在低磷胁迫下其根部均能检测到表达量,该结果与前人研究植物通过改变根长、比表面积和根体积来提高植物对磷的吸收效率存在相关性^[38]。大部分成员(*Hv2RMYB-1*、*Hv2RMYB-13*、*Hv2RMYB-35*、*Hv2RMYB-38*、*Hv2RMYB-48*、*Hv2RMYB-55*、*Hv2RMYB-60*、*Hv2RMYB-84*、*Hv2RMYB-96* 和 *Hv2RMYB-119*)均表现出对低磷胁迫的不同程度响应,暗示着该家族成员在低磷胁迫下可能通过改变根部的表型和生理来调节植物的磷酸盐稳态。此外,10 个候选成员中 *Hv2RMYB-48* 的表达差异较为显著,该差异性与在低磷胁迫下烟草 *NtMYB12*、水稻 *OsMYB1* 和拟南芥 *AtMYB44*、*AtMYB30* 中观察到的结果相似,表明 *Hv2RMYB-48* 可能是大麦根系中参与低磷胁迫应答的特异性调

控因子^[12,39-41]。

3.3 *Hv2RMYB-48* 功能验证

亚细胞定位实验表明,*Hv2RMYB-48* 定位于细胞核,该发现与拟南芥^[42] *AtMYB71*、紫花苜蓿^[43] *MsMYB35*、芍药^[44] *PqMYBF1*、菊花^[45] *CmMYB42*、黑树莓^[46] *RoMYB10* 和百合^[47] *LoMYB21* 等 R2R3-MYB 转录因子的报道相符。这种核定位特性可能归因于其 N 端两个重复结构域(R2 和 R3)包含的核定位信号来介导,这两个结构域有助于 DNA 结合以及与 bHLH 蛋白的相互作用,从而实现相关生物过程^[48]。在拟南芥中的有关研究中,低磷胁迫下可以诱导脱落酸的积累并促进 ABA INSENSITIVE5 (*ABI5*)直接与启动子结合激活磷酸盐转运蛋白 *PHT1;1* 的表达来促进 Pi 摄取^[49-50]。本研究通过酵母单杂实验发现,*Hv2RMYB-48* 可特异性结合 MYB-ABRE-MYB 顺式作用元件。这表明 *Hv2RMYB-48* 作为转录因子,可能通过结合含有 MYB 或 ABRE 元件的靶基因的启动子上,强化对下游磷胁迫响应基因的转录激活,并为已知的 *ABI5-PHT1;1* 调控通路提供了新的补充机制。

4 结论

本研究在大麦中共鉴定出 127 个 R2R3-MYB 家族成员,系统发育分析将其划分为 5 个亚组,并通过共线性分析发现其中包含 16 对串联重复基因,这些基因可能广泛参与激素调控途径。在低磷胁迫条件下,该家族有 10 个成员呈现诱导表达趋势,其中 *Hv2RMYB-48* 的表达最显著。进一步分析表明,*Hv2RMYB-48* 定位于细胞核,且其保守结构域可以与 MYB-ABRE-MYB 发生互作。本研究为大麦 R2R3-MYB 基因家族的后续功能解析提供了理论基础和候选基因资源。

参考文献:

- [1] Luo Y Y, Huang X, Sha A J, et al. Analysis of growth physiological changes and metabolome of highland barley seedlings under cadmium (II) stress [J]. *Environmental Pollution*, 2025, 367: 125664.
- [2] Guo T L, Horvath C, Chen L, et al. Understanding the nutrient composition and nutritional functions of highland barley (Qingke): A review [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2020, 103: 109.
- [3] Chen Z D, Wang J F, Dong D Q, et al. Comparative analysis of TaPHT1; 9 function using CRISPR-edited mutants, ectopic transgenic plants and their wild types under soil conditions

- [J]. *Plant and Soil*, 2025, 509(1): 249.
- [4] Wang Y L, Li R L, Guo Y H, *et al.* Genome-wide identification and expression analysis of the phosphate transporter gene family in *Zea mays* under phosphorus stress [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2025, 26(4): 1445.
- [5] Rabeh K, Hnini M, Oubohssaine M. A comprehensive review of transcription factor-mediated regulation of secondary metabolites in plants under environmental stress [J]. *Stress Biology*, 2025, 5(1): 15.
- [6] Zhang D W, Zhou H P, Zhang Y, *et al.* Diverse roles of MYB transcription factors in plants [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2025, 67(3): 539.
- [7] Lu L, Fan S L, Qin B, *et al.* Identification of R2R3-MYB gene family and functional analysis of responses of S22 subfamily to abiotic stresses in dandelion (*Taraxacum mongolicum* Hand.-mazz.) [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2025, 26(7): 3422.
- [8] Chopy M, Binaghi M, Cannarozzi G, *et al.* A single MYB transcription factor with multiple functions during flower development [J]. *New Phytologist*, 2023, 239(5): 2007.
- [9] Liu Q, Li S J, Li T J, *et al.* The characterization of R2R3-MYB genes in water lily *Nymphaea colorata* reveals the involvement of NcMYB25 in regulating anthocyanin synthesis [J]. *Plants*, 2024, 13(21): 2990.
- [10] Xu Z B, Li J W, Song X, *et al.* Overexpression of the R2R3-MYB transcription factor GmMYB3a enhances isoflavone accumulation in soybean [J]. *Physiologia Plantarum*, 2025, 177(1): e70120.
- [11] Zhao K, Cheng Z H, Guo Q, *et al.* Characterization of the poplar R2R3-MYB gene family and over-expression of *PsnMYB108* confers salt tolerance in transgenic tobacco [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 571881.
- [12] Gu M, Zhang J, Li H H, *et al.* Maintenance of phosphate homeostasis and root development are coordinately regulated by MYB1, an R2R3-type MYB transcription factor in rice [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2017, 68(13): 3603.
- [13] Roychowdhury A, Srivastava R, Akash, *et al.* Metabolic footprints in phosphate-starved plants [J]. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 2023, 29(5): 755.
- [14] Puga M I, Pozacarrión C, Martínez-Hevia I, *et al.* Recent advances in research on phosphate starvation signaling in plants [J]. *Journal of Plant Research*, 2024, 137(3): 315.
- [15] Liu B, Xu W Y, Niu Y X, *et al.* TaTCP6 is required for efficient and balanced utilization of nitrate and phosphorus in wheat [J]. *Nature Communications*, 2025, 16: 1683.
- [16] Wang X X, Qu R J, Wang S W, *et al.* Genome-wide identification of the SmPHR gene family in *Salvia miltiorrhiza* and SmPHR7-mediated response to phosphate starvation in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Cell Reports*, 2025, 44(4): 73.
- [17] Liu C, Bai Z, Luo Y, *et al.* Multiomics dissection of *Brassica napus* L. lateral roots and endophytes interactions under phosphorus starvation [J]. *Nature Communications*, 2024, 15: 9732.
- [18] Wu F K, Yahaya B S, Gong Y, *et al.* ZmARF1 positively regulates low phosphorus stress tolerance via modulating lateral root development in maize [J]. *PLoS Genetics*, 2024, 20(2): e1011135.
- [19] Barros N L F, Gonçalves B X, Trenz T S, *et al.* The role of ASR (ABA stress, and ripening) genes in responses to phosphate starvation in rice roots [J]. *Plant Stress*, 2025, 16: 100824.
- [20] Lei S K, Li G G, Jiang D, *et al.* The genome-wide identification of the R2R3-MYB gene family in Chinese flowering cabbage and the characterization of its response to *Pectobacterium carotovorum* infection [J]. *Horticulturae*, 2024, 10(4): 325.
- [21] Ding P C, Tang P, Li X F, *et al.* Genome-wide identification, phylogeny and expression analysis of the R2R3-MYB gene family in quinoa (*Chenopodium quinoa*) under abiotic stress [J]. *Functional Plant Biology*, 2024, 51: FP23261.
- [22] Xu X Y, Yang Y H, Zhang T, *et al.* Systematic analysis of the R2R3-MYB transcription factor gene family in *Stevia rebaudiana* [J]. *Industrial Crops and Products*, 2024, 210: 118123.
- [23] Zhang Y, Hu L, Wang S, *et al.* Genome-wide identification of R2R3-MYB family in *Eriobotrya japonica* and functional analysis of EjMYB5 involved in proanthocyanidin biosynthesis [J]. *Plant Science*, 2024, 347: 112198.
- [24] 宋美妮. 小麦 PHT 基因家族鉴定及低磷胁迫下 *TaPHT1;36* 基因功能初步验证[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2025.
- Song M N. Identification of wheat (*Triticum aestivum* L.) PHT gene family and preliminary validation of *TaPHT1;36* function under low phosphorus stress [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2025.
- [25] Zhang H C, Gong Y H, Tao T, *et al.* Genome-wide identification of R2R3-MYB transcription factor subfamily genes involved in salt stress in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *BMC Genomics*, 2024, 25(1): 797.
- [26] 邓玉荣. stu-miR159a 负调控花青素特异性 MYB 转录因子介导马铃薯耐旱性的研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2024.
- Deng Y R. stu-miR159a negatively regulates anthocyanin-specific MYB transcription factor to mediate potato drought tolerance [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2024.
- [27] Zhou S D, Zhou Q, Cui Y D, *et al.* Identification of nuclear localization sequence (NLS) sites in R2R3-MYB transcription factor involved in anther development [J]. *Cells*, 2025, 14(7): 470.
- [28] Wei Q H, Chen R, Wei X, *et al.* Genome-wide identification of R2R3-MYB family in wheat and functional characteristics of the abiotic stress responsive gene *TaMYB344* [J]. *BMC Genomics*, 2020, 21(1): 792.
- [29] Li Y M, Kui L W, Liu Z, *et al.* Genome-wide analysis and expression profiles of the StR2R3-MYB transcription factor superfamily in potato (*Solanum tuberosum* L.) [J]. *Internat-*

- tional *Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 148: 817.
- [30] Zhu H X, Dai Q L, Huang F Y, *et al.* Genome-wide identification of the R2R3-MYB gene family in olive and its association with fatty acid biosynthesis [J]. *BMC Plant Biology*, 2025, 25(1): 667.
- [31] Si C C, Li Y B, Hai X, *et al.* Genome-wide identification and expression analysis of MYB transcription factor family in response to various abiotic stresses in coconut (*Cocos nucifera* L.) [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25(18): 667.
- [32] Xue Y W, Li K X, Feng W L, *et al.* Identification of R2R3-MYB transcription factor family based on *Amaranthus tricolor* genome and AtrMYB72 promoting betalain biosynthesis by directly activating AtrCYP76AD1 expression [J]. *Plants*, 2025, 14(3): 10048.
- [33] Tan Z W, Lu D D, Li L, *et al.* Comprehensive analysis of safflower R2R3-MYBs reveals the regulation mechanism of CtrMYB76 on flavonol biosynthesis [J]. *Industrial Crops and Products*, 2025, 227: 120795.
- [34] Barreraredondo J, Ibarralaclette E, Vázquezlobo A, *et al.* The genome of *Cucurbita argyrosperma* (silver-seed gourd) reveals faster rates of protein-coding gene and long noncoding RNA turnover and neofunctionalization within *Cucurbita* [J]. *Molecular Plant*, 2019, 12(4): 506.
- [35] Yadav D, Boyidi P, Ahmed I, *et al.* Plant annexins and their involvement in stress responses [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2018, 155: 293.
- [36] Alqahtani W H, Abdelmaksoud M A, Saleh I A, *et al.* Effects of phosphorus sources on arsenic stress mitigation in wheat *via* proline and antioxidant pathways [J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2025, 44(2): 821.
- [37] Ren P R, Li Q, Wang J, *et al.* Isolation and identification of core-genes in barley roots under low phosphorus stress [J]. *Molecular Biology Reports*, 2025, 52(1): 463.
- [38] 孙鑫阳, 陆宏, 徐纪明, 等. 植物糖与磷信号交互作用的分子机制[J/OL]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2025. <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?filename=ZJNY20250929002&dbname=CJFD&dbcode=CJFQ>.
Sun X Y, Lu H, Xu J M, *et al.* Molecular mechanisms underlying the crosstalk between sugar and phosphate signaling in plants [J/OL]. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences)*, 2025. <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?filename=ZJNY20250929002&dbname=CJFD&dbcode=CJFQ>.
- [39] Song Z P, Luo Y, Wang W F, *et al.* NtMYB12 positively regulates flavonol biosynthesis and enhances tolerance to low P_i stress in *Nicotiana tabacum* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 10: 1683.
- [40] Olukayode T, Chen J Y, Zhao Y, *et al.* Phloem-mobile MYB44 negatively regulates expression of *PHOSPHATE TRANSPORTER 1* in *Arabidopsis* roots [J]. *Plants*, 2023, 12(20): 3617.
- [41] Xiao F, Zhang Y Y, Zhao S S, *et al.* MYB30 and ETHYLENE INSENSITIVE3 antagonistically regulate root hair growth and phosphorus uptake under phosphate deficiency in *Arabidopsis* [J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2021, 16(7): 1913310.
- [42] Cheng Y X, Ma Y X, Zhang N, *et al.* The R2R3-MYB transcription factor MYB71 regulates abscisic acid response in *Arabidopsis* [J]. *Plants*, 2022, 11(10): 1369.
- [43] Cai H C, Zhang S H, Wang Y Z, *et al.* Anther-specific expression of MsMYB35 transcription factor in alfalfa (*Medicago sativa* L.) and its crucial role in pollen development [J]. *The Plant Journal*, 2025, 122(1): e70126.
- [44] Zhang Y, Duan J J, Wang Q Y, *et al.* The *Paeonia qiui* R2R3-MYB transcription factor PqMYBF1 positively regulates flavonol accumulation [J]. *Plants*, 2023, 12(7): 1427.
- [45] Ma R, Yang S, Liu Y H, *et al.* An R2R3-MYB transcription factor CmMYB42 improves low-nitrogen stress tolerance in *Chrysanthemum* [J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2023, 42(9): 5600.
- [46] Li T M, Xin W J, Li Y T, *et al.* An R2R3-MYB transcription factor RoMYB10 regulates anthocyanin biosynthesis in black raspberry [J]. *Agronomy*, 2023, 13(7): 1823.
- [47] He L, Wu Z, Liu X Y, *et al.* The R2R3-MYB transcription factor LoMYB21 regulates anther dehiscence by jasmonate biosynthesis pathway in *Lilium* oriental hybrid *Siberia* [J]. *Scientia Horticulturae*, 2023, 313: 111887.
- [48] Lim S H, Kim D H, Lee J Y. R2R3-MYB repressor, BrMYB32, regulates anthocyanin biosynthesis in Chinese cabbage [J]. *Physiologia Plantarum*, 2024, 176(6): e14591.
- [49] Baek D, Hong S, Kim H J, *et al.* OsMYB58 negatively regulates plant growth and development by regulating phosphate homeostasis [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25(4): 2209.
- [50] Huang Y, Sun M M, Ye Q, *et al.* Abscisic acid modulates seed germination *via* ABA INSENSITIVE5-mediated *PHOSPHATE1* [J]. *Plant Physiology*, 2017, 175(4): 1661.