

绿萼凤仙花和滇水金凤 *MYB61* 基因克隆及表达分析

向南星, 李泽凤, 李新艺, 魏春梅, 黄美娟*, 黄海泉*

西南林业大学园林园艺学院/国家林业和草原局西南风景园林工程技术工程研究中心/云南省功能性花卉资源及产业化技术工程研究中心/西南林业大学园林园艺花卉研发中心, 云南昆明 650224

摘要: 低等植物向高等植物进化过程中, 植物的木质化是适应陆地环境的关键, 而木质素在细胞壁上沉积是木质化的一个重要表现, *MYB61* 在木质素合成途径中发挥着重要作用。为探讨其在绿萼凤仙花和滇水金凤木质素合成过程中的分子机理, 本研究通过 RT-PCR 技术成功克隆绿萼凤仙花和滇水金凤的 *MYB61* 基因, 并将其分别命名为 *IcMYB61* 和 *IuMYB61*; 其 cDNA 全长分别为 1035 bp 和 1002 bp, 分别编码 344 aa 和 333 aa; *IcMYB61* 和 *IuMYB61* 均含有一段内含子, 分别为 84 bp 和 66 bp。理化性质分析推测 *IcMYB61* 和 *IuMYB61* 均为不稳定亲水蛋白。蛋白结构域分析显示, *IcMYB61* 和 *IuMYB61* 均含有 2 个典型的 SANT 保守域; 与其他物种 *MYB61* 基因的氨基酸序列比对发现, 在 N 端均具有高度保守的 R2 和 R3 区域, 推测其为 R2R3-MYB 类基因。系统进化分析表明, *IcMYB61* 和 *IuMYB61* 基因与喜马拉雅凤仙花聚为一支, 证实同一属的亲缘关系更近。荧光定量分析表明: *IcMYB61* 和 *IuMYB61* 在 2 个时期的 3 个不同部位均有表达, 且均在根部的表达量最低; 在绿萼凤仙花中, *IcMYB61* 基因在幼苗期的叶中表达量最高, 成熟期时, 在茎中表达量最高; 在滇水金凤中, *IuMYB61* 基因在 2 个时期的茎中的表达量均最高。通过测定 2 个物种茎和叶的木质素总量发现, 其均在茎中的木质素含量最高, 与 *MYB61* 的表达趋势一致; 推测 *MYB61* 主要在绿萼凤仙花和滇水金凤的茎调控木质素的生物合成。该研究结果为探究 *MYB61* 基因对凤仙花木质素合成调控机制及新品种培育提供一定的基础数据和科学依据。

关键词: 绿萼凤仙花; 滇水金凤; *MYB61*; 木质素; 表达分析

中图分类号: S681.1 文献标识码: A

Cloning and Expression Analysis of *MYB61* Genes in *Impatiens chlorosepala* and *Impatiens uliginosa*

XIANG Nanxing, LI Zefeng, LI Xinyi, WEI Chunmei, HUANG Meijuan*, HUANG Haiquan*

College of Landscape Architecture and Horticulture Sciences, Southwest Forestry University / Southwest Research Center for Engineering Technology of Landscape Architecture, State Forestry and Grassland Administration / Yunnan Engineering Research Center for Functional Flower Resources and Industrialization / Research and Development Center of Landscape Plants and Horticulture Flowers, Southwest Forestry University, Kunming, Yunnan 650224, China

Abstract: During the evolution from lower plants to higher plants, lignification is the key to adapt to the terrestrial environment, while lignin deposition in the cell wall is an important manifestation of lignification, and *MYB61* plays an important role in lignin synthesis pathway. In order to explore the molecular mechanism of *MYB61* in lignin synthesis of *Impatiens chlorosepala* and *Impatiens uliginosa*, *MYB61* genes, named *IcMYB61* and *IuMYB61* in this study, were cloned by using the RT-PCR method. The full-length cDNA was 1035 bp and 1002 bp, encoding 344 aa and 333 aa, containing an intron of 84 bp and 66 bp, respectively. Physicochemical analysis suggested that *IcMYB61* and *IuMYB61* were unstable hydrophilic protein. Domain analysis of protein showed that *IcMYB61* and *IuMYB61* contained two typical SANT conserved domains. The comparison of amino acid sequences of *MYB61* with that of other species showed

收稿日期 2022-08-02; 修回日期 2022-10-10

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 32060364, No. 32060366); 云南省重大科技专项 (No. 202102AE090052)。

作者简介 向南星 (1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 风景园林植物资源与应用。*通信作者 (Corresponding author): 黄美娟 (HUANG Meijuan), E-mail: xmhq2001@163.com; 黄海泉 (HUANG Haiquan), E-mail: haiquanl@163.com。

that there were highly conserved R2 and R3 regions at the N-terminal, which was speculated to be R2R3-MYB gene. Based on the phylogenetic analysis, it found that *IcMYB61* and *IuMYB61* were clustered together with *I. glandulifera*, confirming that the same genus is more closely related. The qPCR showed that *IcMYB61* and *IuMYB61* were expressed in three different parts of the two periods, and the expression levels were the lowest in roots. In *I. chlorosepala*, the highest expression of *IcMYB61* was in the leaves at the seedling stage, and the highest expression level was in the stem at the mature stage. In *I. uliginosa*, the expression of *IuMYB61* was the highest in the stems of both periods. By measuring the total lignin content in stems and leaves of the two species, it was found that the lignin content of both species was the highest in stems, which was consistent with the expression trend of *MYB61*. It is speculated that *MYB61* mainly regulates the biosynthesis of lignin in the stems of *I. chlorosepala* and *I. uliginosa*. The above-mentioned results would provide some basic data and scientific basis for exploring the regulation mechanism of *MYB61* on the lignin synthesis of *Impatiens* and the culture of new varieties.

Keywords: *Impatiens chlorosepala*; *Impatiens uliginosa*; *MYB61* genes; lignin; expression analysis

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.08.005

在低等植物向高等植物进化过程中,植物木质化是适应陆地环境的关键表现之一^[1];木质化是指木质素单体氧化聚合形成的木质素在细胞壁上沉积,使植物细胞壁增厚的过程^[2];木质素的沉积过程一般发生在次生木质部,具有增强植物的机械支撑力、保障植物体内的营养物质长距离运输及提高生物及非生物胁迫能力等功能^[3-6]。近年来,随着分子生物学、基因组学和蛋白组学等方面的发展,植物木质化的分子调控机制已得到深入的研究。木质素作为植物生长发育过程中的一种次生代谢产物,其合成受转录因子和激素酶等制约;其中 MYB、NAC 和 WRKY 类转录因子家族主要参与调控木质素生物合成和其他次级细胞壁形成的相关途径^[7-8];尤以 MYB 类转录因子在此过程中发挥直接且重要的调控作用。

MYB 家族作为植物中最大转录因子家族之一,其主要调节植物的生长发育过程,如代谢调节、生物和非生物的应激响应、细胞分裂和细胞周期的控制等^[9]。MYB 家族基因均含有一段高度保守的 MYB 结构域^[10];根据 MYB 结构域的数量和基序重复类型及个数不同,将其分成 1R-MYB、R2R3-MYB、R1R2R3-MYB 和 4R-MYB^[11]。研究表明,R2R3-MYB 广泛参与苯丙烷类代谢途径,如调控木质素的生物合成、次生代谢和细胞分裂等方面^[12]。研究发现源自拟南芥的 *AtMYB61* 属于 R2R3-MYB 类转录因子,主要参与调控植物木质部木质化和气孔孔径等方面^[13-15];源自神农香菊的 *CiMYB61* 基因在烟草中过表达时,发现转基因烟草的茎和叶中的木质素含量显著增加^[16];在拟南芥中过表达 *AtMYB61* 会使木质素异位沉积^[13-14];且 *MYB61* 是调控水稻细胞壁中纤维素合成的显

性因子之一^[17-18];综上,*MYB61* 基因参与调控了植物木质素的生物合成。

我国凤仙花属 (*Impatiens* L.) 植物资源极为丰富,约有 270 余种,且主要分布于中国西南地区^[19];根据凤仙花对水分的依赖程度,主要分为水生、湿生和陆生三大类型,且不同类型凤仙花的木质化程度存在较大差异^[20]。绿萼凤仙花 (*Impatiens chlorosepala*) 和滇水金凤 (*Impatiens uliginosa*) 主要分布在云南省和贵州省,因花型独特、分枝能力强和花期长等特点,可作为园林植物予以开发利用^[21];绿萼凤仙花生长于山谷溪水或疏林旁,其茎匍匐肉质且含水量大,属于典型的湿生凤仙花;滇水金凤主要在水中生长,其茎直立且空心,易倒伏,属于典型的水生凤仙花。滇水金凤和绿萼凤仙花木质化的研究不仅能对该属植物从水生到陆生的适应机制作出相应判断,还有助于培育更健壮的风仙花植株。目前,尚无滇水金凤和绿萼凤仙花木质素相关基因 *MYB61* 的报道。本研究以绿萼凤仙花和滇水金凤为试验材料,分离克隆 *MYB61* 基因,并对其序列进行生物信息学及系统发育分析;采用 qRT-PCR 阐释其在这 2 种凤仙花的 3 个不同部位 2 个时期的时空表达模式,结合木质素总含量的测定结果,进而探讨 *MYB61* 基因在绿萼凤仙花和滇水金凤木质素生物合成中的功能与作用,为后期进一步探究不同凤仙花木质化差异及新品种培育提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为绿萼凤仙花和滇水金凤,绿萼凤

仙花种植于西南林业大学的树木园中, 滇水金凤采摘于昆明市捞鱼河公园。采取这 2 种凤仙花幼苗期和成熟期地下 5 cm 处的根、距顶端的第 5 片叶和地上 5 cm 处的茎秆。

1.2 方法

1.2.1 总 RNA 的提取与 *MYB61* 基因的克隆 按照 RNA 提取试剂盒 (OMEGA) 操作步骤提取绿萼凤仙花和滇水金凤茎的总 RNA; 再使用逆转录试剂盒 (全式金) 将 RNA 合成 cDNA, 并将其置于 -20°C 冰箱备用。利用本课题组的转录组数据设计引物 (表 1), 由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成。使用 cDNA 模板和引物对 *MYB61* 基因进行 PCR 扩增, 其体系为 $50.0\ \mu\text{L}$ 。PCR 反应条件: 95°C 预变性 5 min, 95°C 变性 50 s, 58°C (*IuMYB61*) / 59°C (*IcMYB61*) 退火 1 min, 72°C 延伸 1 min, 36 个循环; 72°C 延伸 10 min; PCR 产物回收纯化后连接到 pMD19-T 载体, 并转化 DH5 α 感受态细胞, 筛选阳性菌液交由生工生物工程 (上海) 股份有限公司进行测序。

表 1 cDNA 序列扩增引物

Tab. 1 Relevant primer sequences of cDNA amplification

引物名称 Primer name	引物序列 (5'-3') Primer sequence (5'-3')
IuMYB61-F	ATGGGCAGGCATTCTTGCTG
IuMYB61-R	CTAGGAATATTGGCCATATGTTGTGGC
IcMYB61-F	ATGGGCAGGCATTCTTGCTG
IcMYB61-R	TCAATCGCAGGTGAAGATGTTAATCTGTTG

1.2.2 *MYB61* 基因的生物信息学分析 *IcMYB61* 和 *IuMYB61* 基因的理化性质通过 ExPASy 在线软件 (<https://web.expasy.org/protparam/>) 进行分析; 利用 SMART 在线软件 (<http://smart.embl-heidelberg.de/opennewwindow>) 对其结构域进行分析预测, 再使用 CDD (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>) 对它们的超级家族进行预测。通过 NCBI 数据库 Blast 工具 (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 查找同源性高的序列, 再用 DNAMAN 9.0 软件完成序列的多重比对及同源性分析; 在 MEGA-X 软件上构建系统发育树。

1.2.3 *MYB61* 基因的表达特性分析 提取绿萼凤仙花和滇水金凤在幼苗期和成熟期根、茎和叶的总 RNA, 逆转录合成 cDNA。通过 Primer designing tool.nih.gov 网站设计 *IcMYB61* 基因的荧光定量引物 (表 2)。参照丁爱琴等^[22]的内参基

因的 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法, 对每个部位进行 3 次生物重复, 将根作为对照, 计算出 *MYB61* 基因在 2 个不同时期绿萼凤仙花和滇水金凤的 3 个不同部位中的相对表达量, 利用 SPSS Statistics 25 软件对得到的相对表达量数据进行显著性分析, 再使用 Origin 2021 软件对分析结果作直观视图。

表 2 qRT-PCR 扩增相关引物序列

Tab. 2 Relevant primer sequences of qRT-PCR amplification

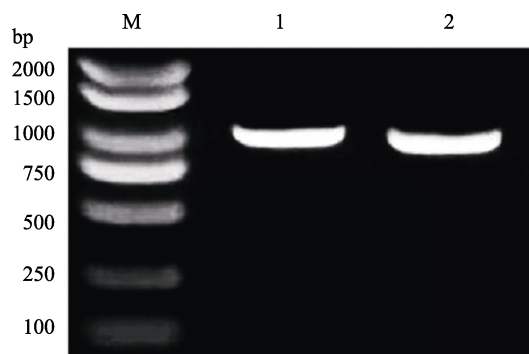
引物名称 Primer name	引物序列 (5'-3') Primer sequence (5'-3')
DNC-F	TGAATGTCCCTGCTGTTTG
DNC-R	ACCTTCCGCATAACTTTACC
IuMYB61-F	CAAACCCATCTCCGGTGGAC
IuMYB61-R	ACGCTTAAGGACCCCAATGA
LNC-F	CTTGATTGGCTGGTCGGGA
LNC-R	TTGACGGCTGGAACAAGACC
IcMYB61-F	CCCGACGAACGGATAATGA
IcMYB61-R	CCGGAGGAGATGGGTTTGT

1.2.4 木质素含量的测定 将成熟期绿萼凤仙花和滇水金凤整株的新鲜的茎和叶在 60°C 下烘干至恒重, 每个样品 3 次重复, 详细步骤参照胡慧贞^[23]的木质素含量测定方法, 得到木质素酸溶和酸不溶的总含量, 使用 SPSS 软件进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 *MYB61* 基因的克隆

以绿萼凤仙花和滇水金凤的 cDNA 为模板, 经 RT-PCR 扩增后得到目的片段 (图 1), 将结果序列与转录组数据比对发现, 序列一致, 分别将其命名为 *IcMYB61* (登录号: OP490310) 和 *IuMYB61* (登录号: OP490311); 将其 cDNA 序列与 gDNA



M: DL2000 DNA marker; 1: *IcMYB61*, 2: *IuMYB61*.

图 1 *IcMYB61* 和 *IuMYB61* 基因的克隆

Fig. 1 Cloning of *IcMYB61* and *IuMYB61* genes

序列全长比对发现, *IcMYB61* 和 *IuMYB61* 基因均由 2 个外显子和 1 个内含子构成, 均在上游, 其内含子长度分别为 84 bp 和 66 bp (图 2)。

2.2 MYB61 基因的理化性质分析

利用 ExPasy-ProtParam 在线软件对绿萼凤仙花和滇水金凤 *MYB61* 基因进行分析(表 3), *IcMYB61* 和 *IuMYB61* 全长分别为 1035 bp 和 1002 bp, 分别编码 344 aa 和 333 aa; 不稳定性指数分别为 67.67 和 65.89, 其数值高于 40, 故 *IcMYB61* 和 *IuMYB61* 均为不稳定蛋白; 总平均亲水指数分别为 -0.728 和 -0.716, 其数值均低于 0, 推测 *IcMYB61* 和 *IuMYB61* 为亲水性蛋白。

2.3 MYB61 基因的结构域及系统进化分析

绿萼凤仙花和滇水金凤 *MYB61* 基因的结构域与保守域预测结果表明, *IcMYB61* 和 *IuMYB61* 基因的 2 个典型 SANT 保守结构域均在 13~63 和 66~114 位氨基酸之间(图 3)。通过 DNAMAN 9.0 软件对试验的 *IcMYB61* 和 *IuMYB61* 与其他物种 *MYB61* 基因进行氨基酸同源序列比对分析(图 4), 结果发现, *IcMYB61* 和 *IuMYB61* 基因与其

他植物的氨基酸序列的一致性为 56.7%, 且同源性主要在 N 端较高, C 端的一致性较低, 说明绿萼凤仙花、滇水金凤和其他物种的 *MYB61* 基因在 C 端的差异均较大。

利用 MEGA-X 软件的邻接法(neighbor-joining, NJ), 根据绿萼凤仙花和滇水金凤 *MYB61* 及其他 *MYB61* 同源物种的氨基酸序列, 从 1000 个重复中推导出 bootstrap 共识树, 并构建 *IcMYB61* 和 *IuMYB61* 基因与其他 *MYB61* 基因同源物种的系统发育分析树, 从图 5 可以看出 *IcMYB61* 和 *IuMYB61* 基因与喜马拉雅凤仙花 *MYB61* 基因聚为一个分支, *IuMYB61* 基因与喜马拉雅凤仙花 (*Impatiens glandulifera* XP 047337748.1) 的同源性较 *IcMYB61* 更高, 说明 *IuMYB61* 与喜马拉雅凤仙花的亲缘关系更近, 在一定程度上可以证明同一个属的亲缘关系更近。

2.4 MYB61 基因的表达分析

通过 qRT-PCR 检测 *IcMYB61* 和 *IuMYB61* 基因分别在绿萼凤仙花和滇水金凤的不同部位中的表达情况, 从图 6 可以看出, *IcMYB61* 和 *IuMYB61*

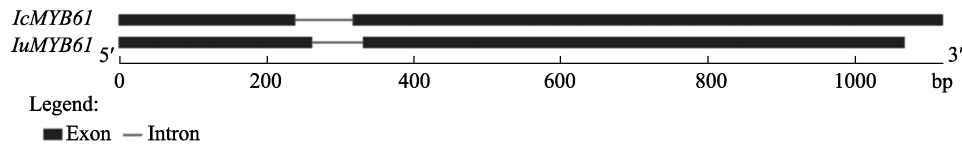


图 2 *IcMYB61* 和 *IuMYB61* 基因的结构图
Fig. 2 Structure map of *IcMYB61* and *IuMYB61* genes

表 3 *IcMYB61* 和 *IuMYB61* 基因氨基酸的理化性质

Tab. 3 Physicochemical properties of amino acids of *IcMYB61* and *IuMYB61* genes

基因 Gene	总原子数 Total number of atoms	相对分子量 Molecular weight/Da	等电点 pI	分子式 Formula	不稳定性指数 Instability index
<i>IuMYB61</i>	5206	37 533.75	6.66	C ₁₆₅₄ H ₂₅₆₀ N ₄₅₈ O ₅₂₆ S ₈	65.89
<i>IcMYB61</i>	5330	38 548.78	6.83	C ₁₆₉₇ H ₂₆₁₀ N ₄₈₂ O ₅₃₃ S ₈	67.67

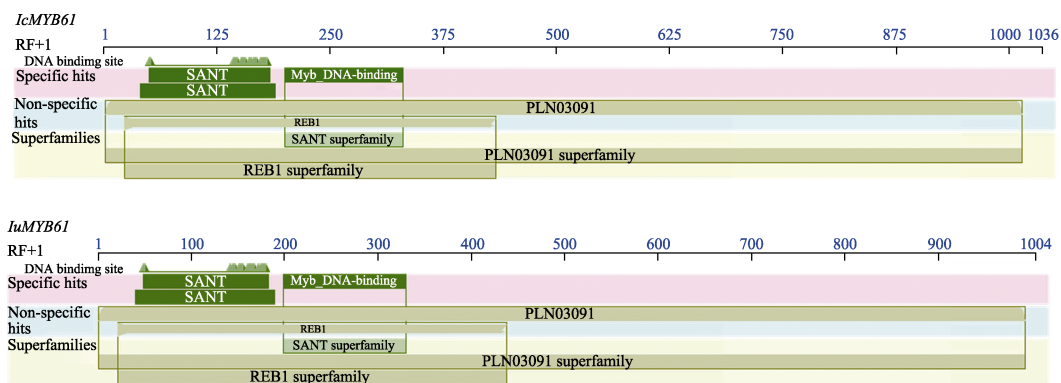


图 3 *IcMYB61* 和 *IuMYB61* 基因的结构域及超级家族
Fig. 3 Conserved domains and superfamily of *IcMYB61* and *IuMYB61* genes

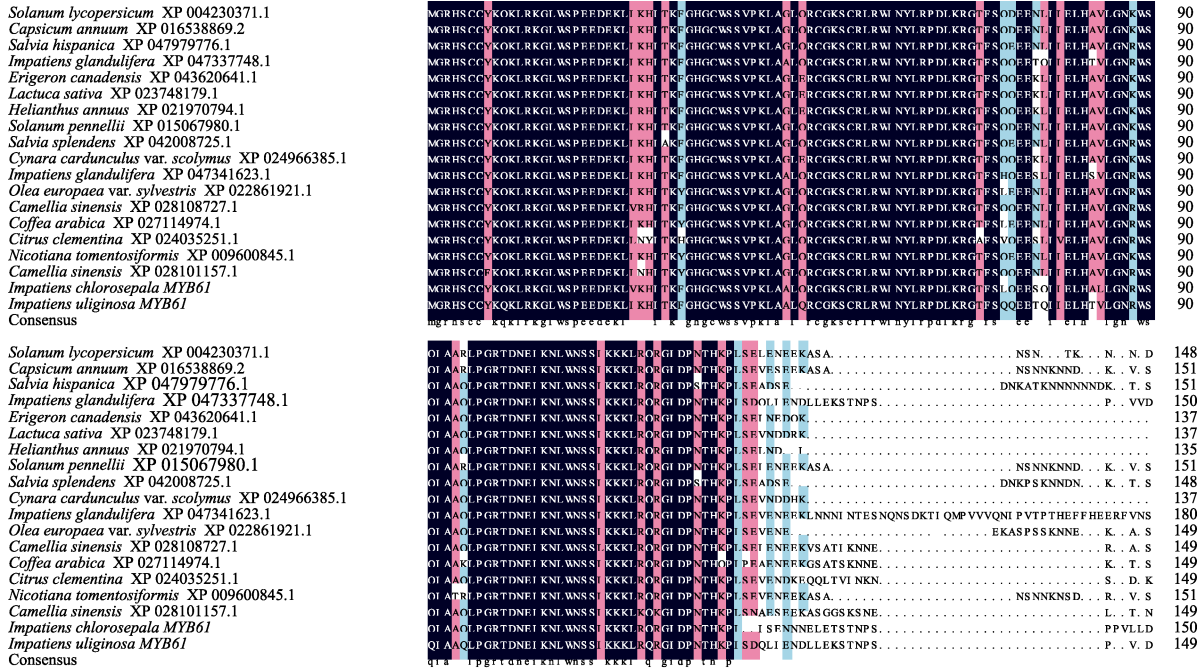


图 4 MYB61 蛋白的同源氨基酸序列比对

Fig. 4 Homologous amino acid sequence alignment of MYB61 protein

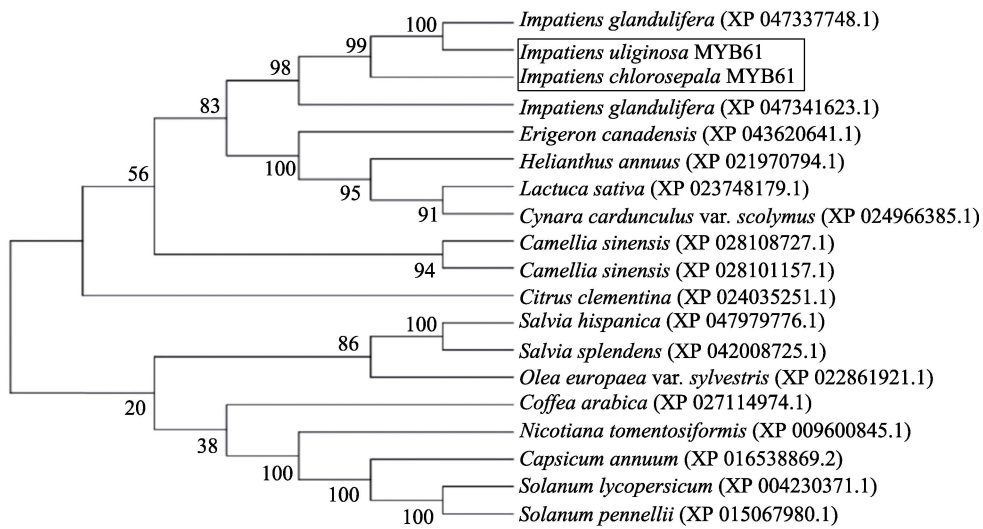


图 5 MYB61 氨基酸序列构建系统进化树

Fig. 5 Phylogenetic tree based on amino acid sequence of MYB61

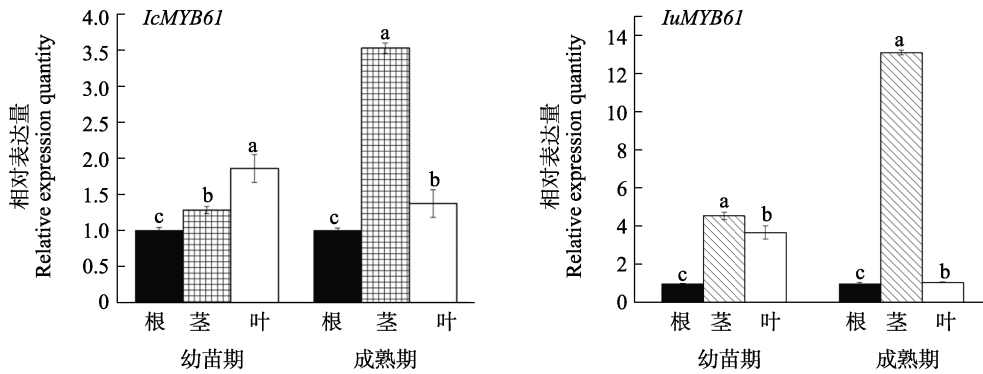
基因在绿萼凤仙花和滇水金凤的根、茎和叶 3 个部位（根、茎和叶）及 2 个不同时期（幼苗期、成熟期）中均有表达。IcMYB61 和 IuMYB61 基因均在 2 个时期的根中表达量最低，在成熟期的茎中表达量最高；IcMYB61 基因在绿萼凤仙花幼苗期的叶中表达量最高，茎次之，而在成熟期的茎中表达量最高，叶次之。IuMYB61 基因在滇水金凤 2 个时期均表现出在茎中的表达量最高，叶次之；上述结果表明 IcMYB61 和 IuMYB61 基因主要在成熟期的茎和幼苗期的茎和叶中发挥作用。

2.5 木质素总量变化分析

从表 4 中发现，在滇水金凤和绿萼凤仙花的茎和叶的木质素总含量存在显著差异 ($P < 0.05$)，经对比分析发现，茎的木质素总含量均明显高于叶的木质素含量，且在滇水金凤中表现更为显著；由于滇水金凤的茎为直立茎，绿萼凤仙花的茎为匍匐茎，说明木质素的含量与茎的直立程度有关。

3 讨论

MYB 是对植物生长发育过程中影响最大的



不同小写字母代表差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图 6 *IcMYB61* 和 *IuMYB61* 基因的表达分析

Fig. 6 Expression analysis of *IcMYB61* and *IuMYB61* genes

表 4 滇水金凤和绿萼凤仙花茎和叶的木质素总含量

Tab. 4 Total lignin content from *I. chlorosepala* and *I. uliginosa* of stem and leaf

物种 Specie	木质素总含量 Total lignin content/%	
	茎 Stem	叶 Leaf
滇水金凤	10.432±0.435 ^a	3.200±0.228 ^a
绿萼凤仙花	4.209±0.156 ^b	2.629±0.198 ^b

注: 不同小写字母代表差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

家族之一, 自 PAZ-ARES 等从玉米 (*Zea mays*) 中克隆出首个与类黄酮合成的 MYB 转录因子 C1 (Colorless 1) 后^[24], 不同植物中的 MYB 类转录因子相继被克隆, 并对其功能进行探究及分析; 目前 *MYB61* 基因在水稻 (*Oryza sativa*)、神农香菊 (*Chrysanthemum indicum* var. *aromaticum*) 和模式植物拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 等植物中已有研究, 其功能主要涉及到纤维素的合成和木质化的异位沉积等^[13, 16-17]。本研究通过克隆获得了绿萼凤仙花和滇水金凤的 *MYB61* 基因, 其 cDNA 全长分别为 1035 bp 和 1002 bp; 基因分别编码 344 aa 和 333 aa, 且都有一个内含子, 均为不稳定亲水性蛋白, 与白桦 *MYB61* 的研究结果一致^[25]; CDD 分析结果表明 *IcMYB61* 和 *IuMYB61* 具有 2 个典型的 SANT 结构域, 与 ZHANG 等^[26] 和 BOYER 等^[27] 的研究结果相似, 与 R2R3-MYB 亚家族的基本结构研究相吻合^[28], 推测 *IcMYB61* 基因属于 R2R3-MYB 家族; 系统发育树分析发现, *IcMYB61* 和 *IuMYB61* 基因与喜马拉雅凤仙花聚为一支, 验证了同一属的亲缘关系最近。

植物细胞在所有细胞中都能合成初级细胞壁 (primary cell wall, PCW), 但只有在特定类型的

细胞中才能产生次级细胞壁 (secondary cell wall, SCW), 如双子叶植物中的木质部导管和纤维, 它们可以传导水分和提供机械支持^[29]; 而这些 SCW 特异性生物聚合物的合成需要由 SCW 特异性转录因子来调控^[30]; 有研究发现神农香菊 *CiMYB61* 在烟草中过表达时, 叶和茎的硬度显著增加, 且转基因株系的木质素含量增加 30%~45%^[16]; *MYB61* 基因在水稻中过表达也出现植株木质化现象^[18]; *MYB61* 在芒草中被认为是直接调控木质素单体形成的基因, 能直接激活 *C4L*、*CCR* 和 *HCT* 等调控木质素合成的相关基因的表达^[17], *MYB61* 调控木质素合成功能基因在其他单子叶和双子叶植物中也有报道^[30-31]。综上所述 *MYB61* 在促进木质素合成过程中发挥了重要作用。已有研究表明 *MYB61* 在大部分植物中均有表达, 且在不同植物的不同部位的表达量差异较大, 主要在茎和叶中的表达量更高^[16, 25]; 本研究的 qRT-PCR 分析结果发现, *IcMYB61* 和 *IuMYB61* 在 2 个时期的根、茎和叶中均有表达, 在幼苗期和成熟期的根中的表达量均最低, 但均在成熟期的茎中表达量最高, 与白桦等植物的研究结果一致^[16], 推测 *MYB61* 主要在凤仙花的茎中发挥作用。幼苗期时, *MYB61* 基因在绿萼凤仙花中叶的表达量最高, 而滇水金凤茎的表达量高于叶, 这可能是由于在幼苗期滇水金凤的直立茎比绿萼凤仙花的匍匐肉质茎的木质素含量更高; 在成熟期时, *MYB61* 基因在绿萼凤仙花和滇水金凤中, 茎的表达量均最高, 和本研究的木质素总含量趋势一致, 这与神农香菊的研究结果一致^[25]; 可以推测 *IcMYB61* 和 *IuMYB61* 基因在绿萼凤仙花和滇水金凤的木质化生物合成中发挥了重要作用, 但其

具体功能及作用机理还有待于进一步的转基因功能验证。

本研究发现 *IcMYB61* 和 *IuMYB61* 基因属于凤仙花中的 R2R3-MYB 亚家族成员, 同时对其在绿萼凤仙花和滇水金凤的不同时期不同部位的时空表达模式及相关木质素的含量进行了分析, 推测 *IcMYB61* 和 *IuMYB61* 基因均在木质素生物合成中发挥重要作用, 在一定程度上为探究凤仙花木质素合成的分子机制提供了一定的基础数据, 而且为凤仙花品种改良及创新提供一定的理论依据。

参考文献

- [1] 黄世全, 王棚涛, 郭思义, 宋纯棚. 植物木质部进化与发育的研究概述[J]. 中国农学报, 2019, 35(21): 82-89.
HUANG S Q, WANG P T, GUO S Y, SONG C P. Evolution and development of plant xylem: a research summary[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2019, 35(21): 82-89. (in Chinese)
- [2] 郭亚玉, 许会敏, 赵媛媛, 吴鸿洋, 林金星. 植物木质化过程及其调控的研究进展[J]. 中国科学, 2020, 50(2): 111-122.
GUO Y Y, XU H M, ZHAO Y Y, WU H Y, LIN J X. Advances in research of plant lignification process and its regulation[J]. Scientia Sinica Vitae, 2020, 50(2): 111-122. (in Chinese)
- [3] 郭光艳, 柏峰, 刘伟, 秘彩莉. 转录因子对木质素生物合成调控的研究进展[J]. 中国农业科学, 2015, 48(7): 1277-1287.
GUO G Y, BAI F, LIU W, MI C L. Advances in research of the regulation of transcription factors of lignin biosynthesis[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2015, 48(7): 1277-1287. (in Chinese)
- [4] 程华. 银杏黄酮和木质素代谢相关基因功能分析[D]. 南京: 南京林业大学, 2012.
CHENG H. Functional analysis of flavonoid and lignin metabolism-related genes in *Ginkgo biloba*[D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2012. (in Chinese)
- [5] 师竹娟. 甘蓝型油菜木质素单体合成基因 *COMT* 和 *F5H* 的克隆及表达调控[D]. 北京: 中国农业科学院, 2006.
SHI Z J. Cloning and expression regulation of lignin monomer synthesis genes *COMT* and *F5H* in *Brassica napus* L.[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2006. (in Chinese)
- [6] 李尧臣, 戚存扣. 抗倒伏甘蓝型油菜(*Brassica napus* L.)木质素含量及木质素合成关键基因的表达[J]. 江苏农业学报, 2011, 27(3): 481-487.
LI Y C, QI C K. Lignin content and key gene expression in lignin synthesis of *Brassica napus* L. with lodging resistance[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Science. 2011, 27(3): 481-487. (in Chinese)
- [7] 黄成, 李来庚. 植物次生细胞壁加厚调控研究进展[J]. 植物生理学报, 2016, 52(1): 8-18.
HUANG C, LI L G. Research progress on regulation of plant secondary cell wall thickening[J]. Plant Physiology Journal, 2016, 52(1): 8-18. (in Chinese)
- [8] 张保才, 周奕华. 植物细胞壁形成机制的新进展[J]. 中国科学: 生命科学, 2015, 45(6): 544-556.
ZHANG B C, ZHOU Y H. Plant cell wall formation and regulation[J]. Scientia Sinica Vitae, 2015, 45(6): 544-556. (in Chinese)
- [9] DUBOS C, STRACKE R, GROTEWOLD E, WEISSHAAR B, MARTIN C, LEPINIEC L. MYB transcription factors in *Arabidopsis*[J]. Trends in Plant Science, 2010, 15(10): 573-581.
- [10] 杜恬恬, 李会萍, 王博雅, 欧倩, 黄艳, 曹颖, 胡尚连. 梁山慈竹 *DfMYB3* 基因克隆及启动子分析[J]. 植物研究, 2021, 41(5): 729-737.
DU T T, LI H P, WANG B Y, OU Q, HUANG Y, CAO Y, HU S L. Cloning and promoter analysis of *DfMYB3* from *Dendrocalamus farinosus*[J]. Bulletin of Botanical Research, 2021, 41(5): 729-737. (in Chinese)
- [11] 左然, 徐美玲, 柴国华, 周功克. 植物 MYB 转录因子功能及调控机制研究进展[J]. 生命科学, 2012, 24(10): 1133-1140.
ZUO R, XU M L, CHAI G H, ZHOU G K. Function and regulation mechanism of plant MYB transcription factors[J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2012, 24(10): 1133-1140. (in Chinese)
- [12] ALBERT N W, GRIFFITHS A G, COUSINS G R, VERRY S M, WILLIAMS W M. Anthocyanin leaf markings are regulated by a family of R2R3-MYB genes in the genus *Trifolium*[J]. The New Phytologist, 2015, 205(2): 882-893.
- [13] PENFIELD S, MEISSNER R C, SHOUE D A, CARPITA N C, BEVAN M W. *MYB61* is required for mucilage deposition and extrusion in the *Arabidopsis* seed coat[J]. Plant Cell, 2001, 13(12): 2777-2791.
- [14] NEWMAN L J, PERAZZA D E, JUDA L, CAMPBELL M M. Involvement of the R2R3 MYB, *AtMYB61*, in the ectopic lignification and dark-photomorphogenic components of the *det3* mutant phenotype[J]. The Plant Journal, 2004, 37(2): 239-250.
- [15] ROMANO J M, DUBOS C, PROUSE M B, WILKINS O, HONG H, POOLEM, KANG K Y, LIE, DOUGLAS C J, WESTERN T L, MANSFIELD S D, CAMPBELL M M.

- AtMYB61*, an R2R3-MYB transcription factor, functions as a pleiotropic regulator via a small gene network[J]. *The New Phytologist*, 2012, 195(4): 774-786.
- [16] 王蕾. 神农香菊 *CiMYB61* 基因的克隆及其功能的初步研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2018.
WANG L. Cloning and functional study of *CiMYB61* gene from *Chrysanthemum shennong*[D]. Haerbin: Northeast Forestry University, 2018. (in Chinese)
- [17] ZENG X F, SHENG J J, ZHU F L, WEI T Z, ZHAO L L, HU X H, ZHENG X F, ZHOU F S, HU Z L, DIAO Y, JIN S R. Genetic, transcriptional, and regulatory landscape of monolignol biosynthesis pathway in *Miscanthus × giganteus*[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2020, 13(179): 1-14.
- [18] GAO Y H, XU Z P, ZHANG L J, LI S, WANG S G, YANG H L, LIU X L, ZENG D L, LIU Q Q, QIAN Q, ZHANG B C, ZHOU Y H. *MYB61* is regulated by GRF4 and promotes nitrogen utilization and biomass production in rice[J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 5219.
- [19] 于胜祥. 中国凤仙花[M]. 北京: 北京大学出版社, 2012.
YU S X. Chinese *Impatiens*[M]. Beijing: Peking University Press, 2012. (in Chinese)
- [20] 余爽. 贵州省野生凤仙花属(*Impatiens*)植物地理分布格局及观赏价值评价[D]. 贵阳: 贵州大学, 2021.
YU S. Geographical distribution pattern and ornamental value evaluation of wild *Impatiens* in Guizhou Province[D]. Guiyang: Guizhou University, 2021. (in Chinese)
- [21] 蔡秀珍. 中国凤仙花属(*Impatiens*)一些系统学问题的研究[D]. 长沙: 湖南师范大学, 2008.
CAI X Z. Some systematic studies on the genus *Impatiens* in China[D]. Changsha: Hunan Normal University, 2008. (in Chinese)
- [22] 丁爱琴, 李绍翠, 刘庆超, 王奎玲, 李伟, 刘庆华, 姜新强. 月季 *RhATAF1* 基因的克隆及表达特性分析[J]. *植物生理学报*, 2018, 54(11): 1711-1718.
DING A Q, LI S C, LIU Q C, WANG K L, LI W, LIU Q H, JIANG X Q. Cloning and expression analysis of *RhATAF1* gene in *Rosa hybrida*[J]. *Plant Physiology Journal*, 2018, 54(11): 1711-1718. (in Chinese)
- [23] 胡慧贞. 拟南芥纤维素合酶及纤维素合酶类似 D 基因家族生物学功能研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2017.
HU H Z. Function analyses of cellulose synthase and cellulose synthase-like genes D families in *Arabidopsis*[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2017. (in Chinese)
- [24] PAZ-ARES J, GHOSAL D, WIENAND U, PETERSON P A, SAEDLER H. The regulatory *c1* locus of *Zea mays* encodes a protein with homology to MYB proto-oncogene products and with structural similarities to transcriptional activators[J]. *The EMBO Journal*, 1987, 6(12): 3553-3558.
- [25] 孙璐. 白桦 *BpMYB21* 和 *BpMYB61* 基因的克隆、表达特性及功能研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2018.
SUN L. Cloning, expression characteristics and functional studies of *BpMYB21* and *BpMYB61* genes in *Betula platyphylla*[D]. Haerbin: Northeast Forestry University, 2018. (in Chinese)
- [26] ZHANG F, LIU X, ZUO K, SUN X F, TANG K X. Molecular cloning and expression analysis of a novel *SANT/MYB* gene from *Gossypium barbadense*[J]. *Molecular Biology Reports*, 2011, 38(4): 2329-2336.
- [27] BOYER L A, LATEK R R, PETERSON C L. The SANT domain: a unique histone-tail-binding module[J]. *Molecular Cell Biology*, 2014, 5(2): 158-163.
- [28] TAKOS A M, JAFFÉ F W, JACOB S R, BOGS J, ROBINSON S P, WALKER A R. Light-induced expression of a *MYB* gene regulates anthocyanin biosynthesis in red apples[J]. *Plant Physiology*, 2006, 142(3): 1216-1232.
- [29] 朱晓博, 张贵粉, 陈鹏. 植物次生细胞壁加厚过程的转录调控[J]. *植物生理学报*, 2017, 53(9): 1598-1608.
ZHU X B, ZHANG G F, CHEN P. Research progress in the transcriptional regulation of secondary cell wall thickening[J]. *Plant Physiology Journal*, 2017, 53(9): 1598-1608. (in Chinese)
- [30] NAKANO Y, YAMAGUCHI M, ENDO H, REJAB N A, OHTANI M. NAC-MYB-based transcriptional regulation of secondary cell wall biosynthesis in land plants[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, 6: 288.
- [31] RAO X, DIXON R A. Current models for transcriptional regulation of secondary cell wall biosynthesis in grasses[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 399.