

疏柔毛罗勒精油累积关键 MYB 的鉴定与挖掘

唐诗淇, 蔡诗曼, 王 佳, 钮 俊*

海南省热带特色花木资源生物学重点实验室/海南大学热带农林学院, 海南儋州 571737

摘要: MYB 是植物中最大的转录因子家族之一, 广泛参与植物生长发育、信号传导和次生代谢调控等过程。本研究基于疏柔毛罗勒 2+3 转录组数据, 通过生信手段系统鉴定疏柔毛罗勒的 MYB (ObMYB) 家族并挖掘与精油累积相关的成员。首先, 通过 MYB 保守结构域同源比对筛选 ObMYB 家族成员, 预测其完整的开发阅读框并分析其基本理化性质; 采用 MEGA 7.0 软件通过邻接法构建系统进化树, 结合 MEME、Batch CD-Search 软件解析蛋白保守结构域特征; 随后, 结合前期疏柔毛罗勒 miRNA 组学数据, 通过 TargetFinder 软件预测与 *ObMYB* 基因互补的靶向 miRNA; 最后, 运用 TBtools 软件进行基因差异表达与热图可视化分析, 基于茎叶不同发育期的精油数据, 通过 SPSS 25 软件进行差异基因表达量与精油含量的相关性分析, 筛选可能参与精油合成累积的关键 ObMYB, 并利用 STRING 数据库构建其蛋白互作 (PPI) 网络以解析可能参与的代谢通路。研究结果显示: 共鉴定 77 个 ObMYB 成员, 分别命名为 *ObMYB-1~ObMYB-77*, 系统进化分析将其划分为 8 个亚家族 (class I~VIII), 各亚族含 6~14 个成员; ObMYB 具有典型亲水特性 (平均等电点为 7.11, 平均亲疏水指数为-0.69), 多数呈现结构稳定性; 5 个 miRNA 可靶向调控 4 个 *ObMYB* 基因; 43 个 *ObMYB* 基因显示差异表达, 其中 *ObMYB-4*、*ObMYB-9*、*ObMYB-27*、*ObMYB-34*、*ObMYB-42*、*ObMYB-46* 及 *ObMYB-69* 的表达量与精油积累呈显著正相关; 蛋白质互作网络分析表明, *ObMYB-4*、*ObMYB-9*、*ObMYB-34*、*ObMYB-36*、*ObMYB-46* 和 *ObMYB-69* 可能涉及黄酮类生物合成和次生代谢物合成调控。本研究系统鉴定 ObMYB 家族成员并分析其与精油累积的关系, 揭示多个与精油合成和积累显著相关的 *ObMYB* 基因, 为深入理解疏柔毛罗勒精油代谢调控机制提供重要理论依据, 并为植物次生代谢研究和芳香植物品质改良提供新的靶点和思路。

关键词: 疏柔毛罗勒; 精油; MYB 转录因子; 黄酮类生物合成

中图分类号: S573.9 文献标志码: A

Identification and Characterization of Key MYB Transcription Factors Involved in *Ocimum basilicum* var. *pilosum* essential oil accumulation

TANG Shiqi, CAI Shiman, WANG Jia, NIU Jun*

Hainan Provincial Key Laboratory of Tropical Ornamental Plant Resources Biology / School of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Danzhou, Hainan 571737, China

Abstract: The MYB family constitutes one of the largest transcription factor families in plants, involving in plant growth and development, signal transduction, and secondary metabolism. Based on our previous 2+3 transcriptome data of *Ocimum basilicum* var. *pilosum*, we systematically identified the *O. basilicum* var. *pilosum* MYB (ObMYB) family through bioinformatics approaches and explored members associated with essential oil accumulation. Firstly, ObMYB members were screened by homologous alignment of MYB conserved domains, and then their complete open reading frames were predicted and the basic physicochemical properties of these encoded proteins were analyzed. Phylogenetic relationship was reconstructed by neighbor-joining method of MEGA 7.0, while conserved motifs and domains were annotated using MEME and Batch CD-Search. Subsequently, incorporating the previous miRNA data of *O. basilicum* var. *pilosum*, the targeted miRNA complementing the *ObMYB* were predicted by TargetFinder. Lastly, differential ex-

收稿日期 2025-05-08; 接受日期 2025-05-26

基金项目 海南大学科研启动基金项目[No. KYQD (ZR) -22056]; 深圳青莲生物科技有限公司项目 (No. HD-KYH-2025107)。

作者简介 唐诗淇 (2004—), 女, 本科生, 研究方向: 植物次生代谢调控机制。*通信作者 (Corresponding author): 钮 俊 (NIU Jun), E-mail: niujun@hainanu.edu.cn。

pression analysis and visualization analysis of heat maps were conducted by TBtools. Based on the essential oil data from different developmental stages of stems and leaves, the correlation analysis between differential gene expression levels and essential oil content was conducted using SPSS 25 to identify the potential ObMYB members involving in the accumulation of essential oil. The protein-protein interaction (PPI) network was constructed by STRING database for analyzing potential metabolic pathways involved. Research results revealed that a total of 77 ObMYB members were characterized, named as *ObMYB-1* to *ObMYB-77*. Phylogenetic analysis divided them into eight subfamilies (class I–VIII), each comprising 6–14 members. These ObMYB proteins exhibited hydrophilic properties and structural stability, average isoelectric point=7.11 and average hydrophobicity=-0.69. Five miRNAs were found to target and regulate four *ObMYB* genes. Among these 43 differentially expressed *ObMYB* genes, *ObMYB-4*, -9, -27, -34, -42, -46 and -69 displayed strong correlations with essential oil accumulation. Moreover, PPI network analysis indicated the potential involvement of *ObMYB-4*, -9, -34, -36, -46 and -69 in flavonoid biosynthesis and secondary metabolite regulation. This study systematically identified the ObMYB family members and analyzed their relationship with essential oil accumulation, revealing multiple *ObMYB* genes significantly associated with the synthesis and accumulation of essential oils. These findings provide a significant theoretical basis for an in-depth understanding of the metabolic regulation mechanisms of *O. basilicum* var. *pilosum* essential oil, and to offer new targets and insights for research on plant secondary metabolism and the improvement of aromatic plant quality.

Keywords: *Ocimum basilicum* var. *pilosum*; essential oil; MYB transcription factor; flavonoid biosynthesis

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2025.09.004

罗勒 (*Ocimum*) 作为一种兼具香料和药用价值的植物, 其种质资源的多样性对推动产业发展具有重要意义^[1]。罗勒主要分布于热带和亚热带地区, 适应性强, 其原产于东南亚地区, 后传入中国, 在南方地区广泛分布, 北方则以栽培品种为主^[2]。罗勒的变种繁多, 主要包括以下几类: (1) 甜罗勒 (*O. basilicum*), 最常见的品种, 绿色叶片具有香甜风味, 广泛用于烹饪^[3]; (2) 圣罗勒 (*O. tenuiflorum*), 在印度和东南亚有宗教意义, 味道辛辣, 略带胡椒味, 用于印度菜和泰式料理^[4]; (3) 肉桂罗勒 (*O. basilicum* Cinnamon), 叶片带有肉桂香气, 适合炖肉及甜品制作^[5]; (4) 紫叶罗勒 (*O. basilicum* var. *purpurascens*), 暗紫色叶片具有独特香气, 常用于沙拉装饰^[6]; (5) 柠檬罗勒 (*O. basilicum* var. *citriodorum*), 叶片带有柠檬香味, 适合搭配鱼肉或鸡肉^[7]; (6) 疏柔毛罗勒 (*O. basilicum* var. *pilosum*), 叶片芳香且略带甜味, 常用于烹饪、调味及香草油制作^[8]。

罗勒属植物因其高经济价值受到广泛关注, 尤其是其精油有良好的抗菌、杀菌、抗炎、抗氧化作用^[9], 在制药、日用品、植物保护、食品保鲜等领域应用广泛, 近几年来不断有新的用途被挖掘: (1) 罗勒精油有抗抑郁作用, 可舒缓神经紧张、焦虑和抑郁情绪^[10]; (2) 疏柔毛罗勒提炼的精油在食品加工方面应用广泛, 是饮料、调味品、糖果、罐头食品、焙烤食品等的加工调料^[11]; (3) 罗勒和肉豆蔻精油作为饲料添加剂明显提高肉鸡

的生产性能^[12]; (4) 罗勒挥发油可以减少鱼类暂养所需的时间, 延长无水保存的生存时间^[13]; (5) 罗勒精油对某些植物病原真菌有良好的熏蒸抑制作用, 可作为一种安全绿色的新型杀菌剂替代部分化学制品^[14]。

疏柔毛罗勒 (*O. basilicum* var. *pilosum*) 是唇形科罗勒属的一年生草本芳香植物, 广泛分布于中国的多个地区, 如江苏、江西、浙江、福建、广西、广东和海南^[15]。与同属植物相比, 疏柔毛罗勒茎叶表面被覆绒毛, 挥发油含量较高。其地上部分因其多样的药理特性而被广泛应用, 包括治疗感冒和胃灼热, 并具有镇静和解毒作用^[16]。除此之外, 从疏柔毛罗勒叶片、茎和花序中提取的精油目前被广泛用于食品、化妆品和制药行业^[17]。

转录因子是一类能与基因 5'端上游特定序列专一性结合, 从而保证目的基因以特定的强度在特定的时间与空间表达的蛋白质分子。MYB 转录因子是植物中家族成员最多的转录因子, 广泛参与调控萜类、黄酮类等次生代谢物质的积累。如曼地亚红豆杉 TmMYB3 可促进紫杉醇(二萜)的合成^[18]; 丹参 SmMYB98 与 *SmGGPPS1* 启动子结合促进丹参酮的合成^[19]; MbMYB12 在桑树中促进约 30 种黄酮类化合物合成^[20]; 杨树 MYB118L 激活相关基因, 如 *LARI* (*Leucoanthocyanidin Reductase 1*) 的表达, 从而影响花青素合成^[21]。但近年来, 国内外还未见罗勒属植物 MYB 转录因子家族的相关研究报道。

1 材料与方法

1.1 疏柔毛罗勒精油累积试验

以疏柔毛罗勒的非木质化茎 (J1)、木质化茎 (J2)、嫩叶 (Y1) 以及老叶 (Y2) 为试验材料, 进行 3 次生物学重复试验。(1) 往样品中加入 1.00 mL 含有 L-2-氯苯丙氨酸的提取液 (甲醇氯仿体积比=3:1), 涡旋 30 s; (2) 将样品置于液氮罐中冷冻 1 min, 后涡旋 30 s; (3) 冰水浴超声 10 min 后在 12 000 r/min, 4 °C 下离心 15 min; (4) 用移液枪取 800 μ L 上清液于 EP 管中, 后置于真空浓缩器干燥; (5) 加 50 μ L 甲氧胺盐试剂, 混合后放入 80 °C 烘箱中 30 min; (6) 加 70 μ L BSTFA 后在 70 °C 下保存 1.5 h。通过计算峰值总含量, 确定不同组织部位的精油含量。

1.2 ObMYB 家族成员的鉴定

将疏柔毛罗勒的 MYB 转录因子命名为 ObMYB。在国家基因组科学数据中心 CRA013854 和 CRA013868 中下载疏柔毛罗勒转录组测序数据, 通过 MYB 家族保守结构域分析, 初步鉴定得到 ObMYB 基因。利用 NCBI 的 ORF Finder (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>) 工具搜索初步鉴定得到的基因, 获取氨基酸序列并展开分析 (设置最小 ORF 长度为 300 nt, 其他参数设置保持默认), 筛选出最终的 ObMYB 家族成员。

1.3 ObMYB 家族蛋白理化性质分析

统计分析 ObMYB 基因的编码区起始位置、结束位置、ORF 长度、编码的蛋白序列等, 通过 Sequence Manipulation Suite (Version 2) (https://www.puregon.com/dcode/calculator/sms/protein_mw.html) 在线软件计算蛋白序列的 pI 值和分子量 (MW), 使用 ProtParam 工具预测 ObMYB 的理论等电点、亲疏水性值、不稳定系数。

1.4 ObMYB 家族系统进化树构建

利用 MEGA 7.0 软件内置工具 MUSCLE 对 ObMYB 家族的氨基酸进行序列分析, 采用邻接法 (neigh-joining, NJ) 模型将比对结果构建系统发育树 (设置氨基酸模型为 p-distance, bootstrap 重复检验参数为 1000, 其他参数设置保持默认)。

1.5 ObMYB 家族蛋白基序分析及保守结构域分析

通过 MEME (<https://meme-suite.org/meme/tools/meme>) 在线软件分析 ObMYB 的蛋白基序排列方式和分布, 参数设置: 基序的最大数量为

10, 最小图案宽度为 6, 最大图案宽度为 50, 其余参数均为默认。使用 Batch CD-Search (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi>) 在线软件预测基因家族保守结构域; 利用 Tbtools (Gene structure view) 软件可视化 ObMYB 的保守基序与结构域。

1.6 精油相关 miRNA 靶向 ObMYB 基因预测

MicroRNAs (miRNA) 参与动植物转录后基因表达调控。从 BioProject (PRJCA021551, subPRO031980) 中获取精油相关 miRNA, 用 TargetFinder 软件在 ObMYB 基因中进行靶基因预测, 绘制靶基因热图。

1.7 ObMYB 基因差异表达分析

将嫩叶、老叶与非木质化茎、木质化茎分为 6 组进行两两比较, 利用 Tbtools 软件的 differential gene expression analysis 功能计算各组 ObMYB 基因表达量的变化倍数 (Fold Change), 将符合 $|\log_2 \text{Fold Change}| \geq 1$ 且错误发现率 $P \leq 0.05$ 的基因定义为 ObMYB 差异基因。以 $\log_2 \text{Fold Change}$ 大于 1 (上调) 或小于 -1 (下调) 为标准, 用 Tbtools 软件的 Volcano Plot 工具绘制各组差异基因火山图并统计上调基因和下调基因。用 TBtools 软件的 HeatMap 工具绘制 ObMYB 差异基因和精油累积的表达情况热图。

1.8 ObMYB 差异基因表达量和精油含量相关性分析

结合运用 SPSS 25 软件和皮尔逊系数法, 对 ObMYB 差异基因表达量和疏柔毛罗勒精油相对含量进行相关性分析, 筛选出涉及精油累积的 ObMYB。

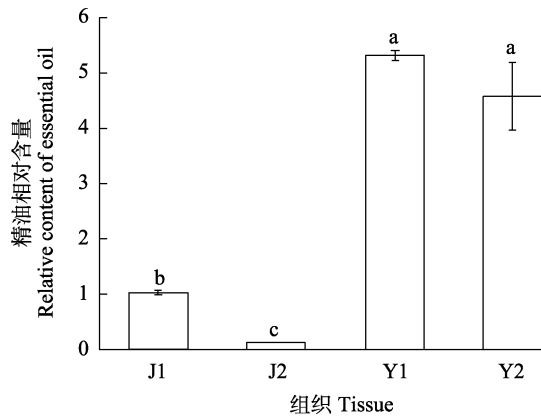
1.9 疏柔毛罗勒精油累积相关 ObMYB 功能分析

以拟南芥为参考植物, 利用 STRING (<http://cn.string-db.org>) 在线软件进行蛋白互作分析, 得到蛋白质互作网络图, 从而预测 ObMYB 的功能。对所有精油累积相关 ObMYB 的基因进行 GO 和 KEGG 富集分析, 获得其所涉及的代谢通路。

2 结果与分析

2.1 不同生长部位及生长状态下疏柔毛罗勒精油相对含量

如图 1 所示, Y1、Y2 精油含量无显著差异, 均显著高于 J1、J2, J2 中精油含量最低。结果表明, 疏柔毛罗勒叶中的精油含量显著高于茎, 其



不同小写字母表示显著差异 ($P < 0.05$)。

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

图 1 精油相对含量

Fig. 1 Relative content of essential oil

中非木质化茎含量显著高于木质化茎,说明叶片是疏柔毛罗勒精油的主要来源器官。

2.2 ObMYB 家族鉴定及蛋白理化性质分析

基于转录组数据,最终获得 ObMYB 家族成员 77 个,分别命名为 *ObMYB-1~ObMYB-77* (表 1)。ObMYB 家族成员长度在 112 aa (ObMYB-37) 至 744 aa (ObMYB-19) 之间。平均分子量 (MW) 约为 30.40 kDa,最小是 ObMYB-37 (11.92 kDa),最大是 ObMYB-14 (59.51 kDa)。77 个 ObMYB 的平均理论等电点 (pI) 约为 7.11,最小为 4.21 (ObMYB-37),最大为 10.07 (ObMYB-55)。42 个 ObMYB 为酸性,1 个 ObMYB 为中性,其余 ObMYB 为碱性。平均亲疏水值 (GRAVY) 约为

表 1 ObMYB 家族蛋白理化性质

Tab. 1 Physicochemical properties of ObMYB family proteins

| 转录因子 TF | 基因 ID Gene ID | 蛋白质长度 Protein length/aa | 分子量 MW/kDa | 理论等电点 pI | 不稳定指数 Instability index | 平均亲疏水值 GRAVY |
|------------|------------------|----------------------------|---------------|-------------|----------------------------|-----------------|
| ObMYB-1 | PB.31807 | 370 | 41.17 | 8.75 | 60.58 | -0.725 |
| ObMYB-2 | PB.47918 | 178 | 19.70 | 5.86 | 61.28 | -0.575 |
| ObMYB-3 | TCONS_00001835 | 255 | 29.29 | 6.40 | 57.07 | -0.718 |
| ObMYB-4 | TCONS_00001967 | 272 | 31.04 | 6.55 | 47.87 | -0.675 |
| ObMYB-5 | TCONS_00001981 | 235 | 27.17 | 9.30 | 50.02 | -0.725 |
| ObMYB-6 | TCONS_00003042 | 273 | 30.24 | 7.00 | 64.16 | -0.610 |
| ObMYB-7 | TCONS_00003462 | 264 | 30.82 | 7.14 | 79.03 | -1.124 |
| ObMYB-8 | TCONS_00006303 | 235 | 27.18 | 9.30 | 50.83 | -0.719 |
| ObMYB-9 | TCONS_00006315 | 272 | 30.98 | 6.55 | 46.78 | -0.707 |
| ObMYB-10 | TCONS_00007807 | 246 | 28.74 | 9.51 | 51.84 | -0.986 |
| ObMYB-11 | TCONS_00008092 | 275 | 30.74 | 8.61 | 49.67 | -0.583 |
| ObMYB-12 | TCONS_00008911 | 222 | 24.45 | 5.58 | 45.81 | -0.439 |
| ObMYB-13 | TCONS_00010909 | 309 | 35.43 | 6.15 | 53.90 | -0.688 |
| ObMYB-14 | TCONS_00011832 | 537 | 59.51 | 8.64 | 49.25 | -0.654 |
| ObMYB-15 | TCONS_00016390 | 317 | 35.57 | 8.46 | 50.22 | -0.650 |
| ObMYB-16 | TCONS_00018010 | 192 | 22.03 | 8.80 | 52.50 | -0.848 |
| ObMYB-17 | TCONS_00020813 | 244 | 27.88 | 9.44 | 61.91 | -0.739 |
| ObMYB-18 | TCONS_00022056 | 281 | 32.13 | 5.27 | 50.61 | -0.784 |
| ObMYB-19 | TCONS_00029148 | 744 | 36.45 | 5.70 | 45.37 | -0.473 |
| ObMYB-20 | TCONS_00030763 | 336 | 28.51 | 5.82 | 54.01 | -0.923 |
| ObMYB-21 | TCONS_00030872 | 244 | 31.86 | 7.65 | 52.83 | -0.581 |
| ObMYB-22 | TCONS_00031026 | 283 | 26.12 | 9.27 | 63.16 | -0.739 |
| ObMYB-23 | TCONS_00031443 | 234 | 27.52 | 5.92 | 62.08 | -0.863 |
| ObMYB-24 | TCONS_00033471 | 245 | 35.45 | 8.66 | 51.98 | -0.691 |
| ObMYB-25 | TCONS_00034062 | 321 | 36.09 | 8.85 | 49.73 | -0.573 |
| ObMYB-26 | TCONS_00036046 | 349 | 37.74 | 7.11 | 58.67 | -0.575 |
| ObMYB-27 | TCONS_00036197 | 192 | 20.21 | 4.60 | 39.70 | -0.177 |
| ObMYB-28 | TCONS_00036864 | 311 | 35.67 | 6.26 | 49.47 | -0.690 |
| ObMYB-29 | TCONS_00037218 | 279 | 31.44 | 6.47 | 58.13 | -0.750 |
| ObMYB-30 | TCONS_00037976 | 309 | 35.43 | 6.15 | 55.52 | -0.686 |
| ObMYB-31 | TCONS_00038168 | 217 | 25.35 | 4.97 | 50.21 | -0.991 |
| ObMYB-32 | TCONS_00038427 | 225 | 25.42 | 5.72 | 55.10 | -0.633 |

续表 1 ObMYB 家族蛋白理化性质
Tab. 1 Physicochemical properties of ObMYB family proteins (continued)

| 转录因子 TF | 基因 ID Gene ID | 蛋白质长度 Protein length/aa | 分子量 MW/kDa | 理论等电点 pI | 不稳定指数 Instability index | 平均亲疏水值 GRAVY |
|------------|------------------|----------------------------|---------------|-------------|----------------------------|-----------------|
| ObMYB-33 | TCONS_00039311 | 142 | 33.53 | 6.25 | 47.26 | -0.445 |
| ObMYB-34 | TCONS_00039522 | 273 | 30.35 | 6.23 | 50.05 | -0.684 |
| ObMYB-35 | TCONS_00040664 | 341 | 36.85 | 7.11 | 55.62 | -0.554 |
| ObMYB-36 | TCONS_00040682 | 221 | 25.50 | 8.87 | 43.27 | -0.355 |
| ObMYB-37 | TCONS_00041436 | 112 | 11.92 | 4.21 | 54.79 | -0.271 |
| ObMYB-38 | TCONS_00042435 | 321 | 36.09 | 8.85 | 49.73 | -0.573 |
| ObMYB-39 | TCONS_00042437 | 274 | 30.90 | 8.61 | 50.76 | -0.593 |
| ObMYB-40 | TCONS_00043362 | 246 | 26.90 | 9.51 | 52.69 | -0.972 |
| ObMYB-41 | TCONS_00043526 | 222 | 24.50 | 5.76 | 44.56 | -0.437 |
| ObMYB-42 | TCONS_00044731 | 282 | 32.09 | 6.15 | 44.68 | -0.433 |
| ObMYB-43 | TCONS_00045056 | 294 | 32.55 | 6.32 | 46.67 | -0.567 |
| ObMYB-44 | TCONS_00047618 | 297 | 33.43 | 5.92 | 50.16 | -0.760 |
| ObMYB-45 | TCONS_00047658 | 246 | 28.84 | 5.59 | 63.00 | -0.932 |
| ObMYB-46 | TCONS_00048424 | 269 | 29.99 | 6.00 | 48.64 | -0.692 |
| ObMYB-47 | TCONS_00048809 | 213 | 24.55 | 9.17 | 52.66 | -1.068 |
| ObMYB-48 | TCONS_00049329 | 249 | 28.33 | 9.40 | 42.87 | -0.655 |
| ObMYB-49 | TCONS_00049548 | 283 | 32.27 | 6.32 | 53.89 | -0.778 |
| ObMYB-50 | TCONS_00050202 | 283 | 32.39 | 6.16 | 53.79 | -0.781 |
| ObMYB-51 | TCONS_00050943 | 198 | 22.73 | 9.63 | 45.11 | -0.847 |
| ObMYB-52 | TCONS_00051927 | 214 | 23.93 | 9.48 | 72.34 | -0.671 |
| ObMYB-53 | TCONS_00053515 | 285 | 30.36 | 6.80 | 53.55 | -0.627 |
| ObMYB-54 | TCONS_00056291 | 281 | 32.25 | 5.04 | 50.23 | -0.807 |
| ObMYB-55 | TCONS_00059706 | 243 | 28.64 | 10.07 | 64.98 | -1.107 |
| ObMYB-56 | TCONS_00060661 | 254 | 28.59 | 5.31 | 42.20 | -0.662 |
| ObMYB-57 | TCONS_00061027 | 249 | 27.85 | 8.87 | 61.25 | -0.752 |
| ObMYB-58 | TCONS_00061546 | 192 | 20.30 | 4.60 | 39.48 | -0.136 |
| ObMYB-59 | TCONS_00061737 | 301 | 33.54 | 6.25 | 50.64 | -0.514 |
| ObMYB-60 | TCONS_00062174 | 323 | 35.99 | 5.37 | 45.68 | -0.594 |
| ObMYB-61 | TCONS_00063366 | 321 | 36.09 | 8.85 | 49.73 | -0.573 |
| ObMYB-62 | TCONS_00065299 | 275 | 31.12 | 4.98 | 53.79 | -0.609 |
| ObMYB-63 | TCONS_00065551 | 263 | 30.53 | 7.64 | 76.04 | -1.048 |
| ObMYB-64 | TCONS_00066135 | 285 | 30.48 | 7.16 | 53.15 | -0.633 |
| ObMYB-65 | TCONS_00066387 | 248 | 29.03 | 6.02 | 53.91 | -0.906 |
| ObMYB-66 | TCONS_00066671 | 271 | 31.19 | 6.57 | 49.40 | -0.835 |
| ObMYB-67 | TCONS_00069367 | 297 | 33.36 | 5.79 | 49.55 | -0.757 |
| ObMYB-68 | TCONS_00069407 | 247 | 28.95 | 5.64 | 61.41 | -0.935 |
| ObMYB-69 | TCONS_00070332 | 236 | 26.28 | 9.27 | 61.45 | -0.729 |
| ObMYB-70 | TCONS_00071979 | 218 | 24.60 | 8.98 | 56.74 | -0.687 |
| ObMYB-71 | TCONS_00073929 | 289 | 32.38 | 6.22 | 53.57 | -0.702 |
| ObMYB-72 | TCONS_00076680 | 333 | 37.28 | 6.24 | 47.70 | -0.586 |
| ObMYB-73 | TCONS_00077023 | 322 | 35.59 | 5.43 | 50.83 | -0.476 |
| ObMYB-74 | TCONS_00077915 | 240 | 27.64 | 9.44 | 59.53 | -0.700 |
| ObMYB-75 | TCONS_00080576 | 370 | 39.85 | 5.74 | 54.67 | -0.662 |
| ObMYB-76 | TCONS_00087154 | 229 | 26.74 | 7.22 | 53.20 | -0.753 |
| ObMYB-77 | TCONS_00087421 | 235 | 27.16 | 7.68 | 53.77 | -0.919 |

-0.69,属于亲水性蛋白。ObMYB-27和ObMYB-58为不稳定蛋白,其他75个为稳定蛋白。

2.3 ObMYB 家族成员的系统发育树分析

基于保守结构域明显的73个ObMYB家族成

员的蛋白序列构建系统发育树(图2),可划分成8个亚组(class I~VIII),每个亚组包含6~14个成员。class II和class VI是最少的亚组,各包括6个成员。class I是最多的亚组,包括14个成员。

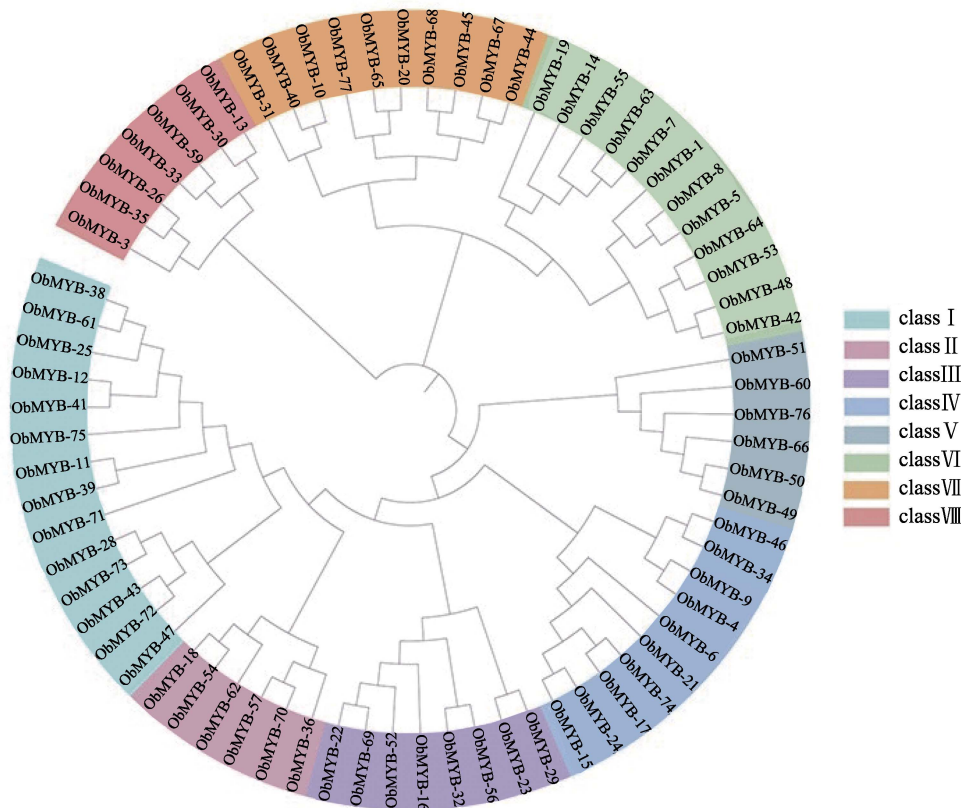


图2 ObMYB 家族系统进化树

Fig. 2 Phylogenetic tree of the ObMYB family

2.4 ObMYB 家族成员保守基序、基因结构、保守结构域分析

ObMYB 家族成员保守基序和保守结构域的可视化结果(图3)显示,多数保守结构域和基序主要存在于ObMYB的N端区域,部分分布在序列中间,少数分布于序列C端。除motif 5、motif 6和motif 9这3个基序外,其余7个基序均含有色氨酸(W),其中含量最多的为motif 1,表明ObMYB的保守性较高。此外,不同ObMYB的蛋白序列数不尽相同。ObMYB-75所含的保守序列最多(10个),而ObMYB-42、ObMYB-48、ObMYB-53、ObMYB-64等4个蛋白的保守序列数最少,仅为2个。进一步分析发现motif 2(长度为21氨基酸)出现频率最高,除了ObMYB-12和ObMYB-41外,其他ObMYB均含有该基序。其次,出现频率较高的是motif 1和motif 3,仅有

6个成员不含这2个基序(长度分别为50个和15个氨基酸)。

2.5 精油相关 miRNA 靶向 ObMYB 基因预测

由图4可知,鉴定的5个miRNA靶向识别4个ObMYB基因,novel_miR_314和novel_miR_324共同靶向调控ObMYB-60基因,novel_miR_126靶向调控ObMYB-35基因,novel_miR_6靶向调控ObMYB-65基因,novel_miR_44靶向调控ObMYB-56基因。

2.6 ObMYB 基因差异表达分析

差异表达分析结果(图5)表明,各组中的ObMYB差异基因共有43个,其中J2-Y2组最多(34个),Y1-Y2组的差异基因最少(3个)。各组间ObMYB基因的表达均有不同程度差异(图6),ObMYB-4、ObMYB-9、ObMYB-27、ObMYB-42及ObMYB-75等基因在叶中的表达量显著高于茎。

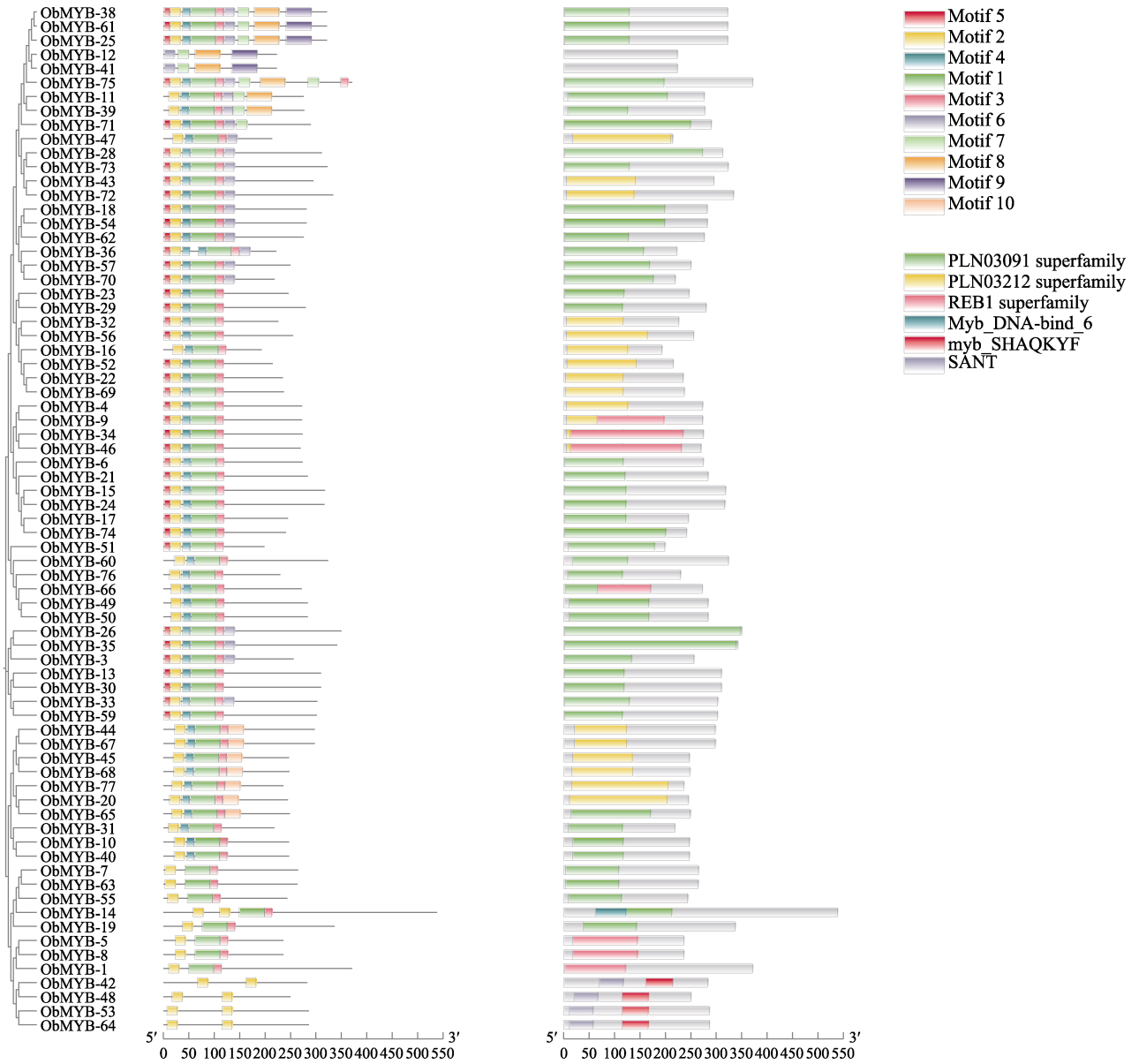


图 3 ObMYB 家族成员进化树、基序分析、保守结构域分析

Fig. 3 Phylogenetic tree, motif analysis, and conserved domain analysis of ObMYB family members

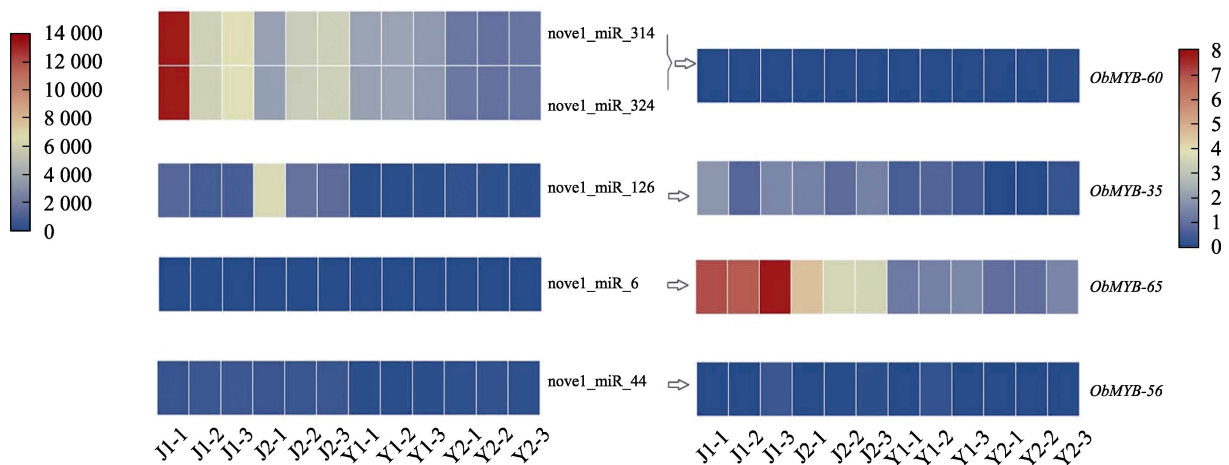
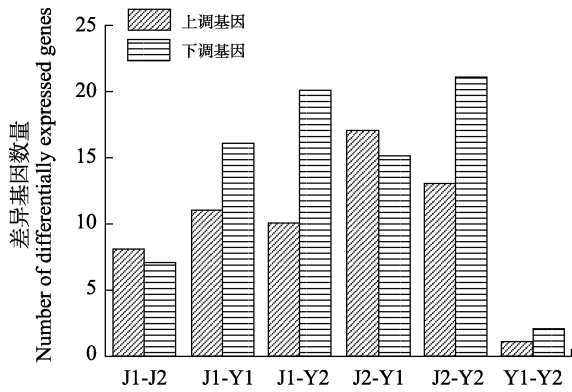
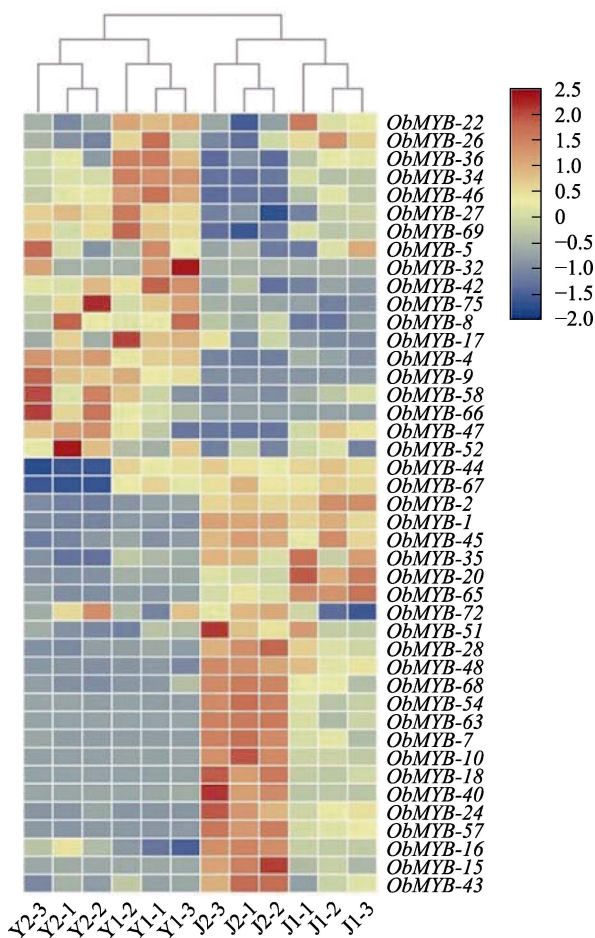


图 4 精油积累相关 miRNA 及其 ObMYB 靶基因热图

Fig. 4 Heatmap of essential oil-associated miRNAs and their ObMYB target genes

图 5 *ObMYB* 差异基因分析Fig. 5 Analysis of *ObMYB* differential genes图 6 *ObMYB* 差异基因表达热图Fig. 6 Heatmap of expression of *ObMYB* differential genes

2.7 *ObMYB* 差异基因表达量和精油含量相关性分析

对测定出的 43 个 *ObMYB* 差异基因表达量与精油含量的相关性进行分析, 结果见表 2。22 个 *ObMYB* 基因与精油积累水平呈负相关关系, 表明在疏柔毛罗勒精油积累过程中可能发挥抑制作

用; 7 个 *ObMYB* 基因与精油积累水平显示皮尔逊系数 (r) 普遍较低, 证明其对于疏柔毛罗勒精油合成的影响力较弱; 其余 14 个 *ObMYB* 基因的表达水平与精油积累呈正相关关系, 初步推测其可能对疏柔毛罗勒精油的合成积累起促进作用。其中 *ObMYB-4*、*ObMYB-9*、*ObMYB-27*、*ObMYB-34*、*ObMYB-42*、*ObMYB-46*、*ObMYB-69* 等 7 个基因的皮尔逊相关性系数大于 0.8, 为极显著正相关关系。

2.8 疏柔毛罗勒精油积累相关 *ObMYB* 功能分析

以拟南芥为参考植物, 探究疏柔毛罗勒精油积累正相关差异基因所编码的 *ObMYB* 及其关联蛋白的相互作用网络 (图 7)。蛋白质间有连线表示有相互作用关系, 且连线越粗说明互作关系的置信度评分 (confidence score) 越高, 2 种蛋白质越可能在功能上联系紧密。

根据 GO 功能分析结果可知, *ObMYB* 差异基因注释情况如下: 细胞组分 1 个分类, 共有 12 个, 均为细胞核 (GO: 0005634) 基因; 分子功能 5 个分类, 共 19 个, 其中参与 DNA 结合 (GO: 0003677) 和 DNA 结合转录因子活性 (GO: 0003700) 的基因最多, 这从侧面证明了 MYB 转录因子的功能; 生物学过程 5 个分类, 有 34 个, 涉及的 5 个代谢过程都与黄酮类合成有关。

KEGG 代谢通路富集分析结果表明 *ObMYB-4*、*ObMYB-9*、*ObMYB-34*、*ObMYB-36*、*ObMYB-46*、*ObMYB-69* 这 6 个差异基因注释到了黄酮类生物合成 (flavonoid biosynthesis) ($P < 0.05$) 和次生代谢物生物合成通路 (biosynthesis of secondary metabolites) ($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 *ObMYB* 家族成员数量分析

MYB 转录因子家族涉及植物生长发育、信号转导及代谢过程, 然而目前还未有关于疏柔毛罗勒 MYB 家族的系统报道。本研究首次鉴定分析 *ObMYB* 家族成员, 并初步揭示其与精油积累的调控机制。大量研究显示不同植物中 R2R3-YB 家族成员个数存在差异: 艾草 92 个^[22], 板栗 141 个^[23], 玉米 177 个^[24], 桃 190 个^[25], 杜仲 191 个^[26]。本研究在疏柔毛罗勒基因组中共鉴定到 77 个 *ObMYB*, 划分为 8 个亚组, 进化树结构与银杏^[27] 类似。本研究中鉴定的转录因子家族成员数量低于其他植物, 可能是采用的转录组数据仅来

表 2 *ObMYB* 差异基因和精油积累相关性系数

Tab. 2 Correlation coefficients between *ObMYB* differential genes and essential oil accumulation

| 基因名称 Gene name | <i>r</i> | 基因名称 Gene name | <i>r</i> | 基因名称 Gene name | <i>r</i> |
|-------------------|----------|-------------------|----------|-------------------|----------|
| <i>ObMYB-1</i> | -0.969** | <i>ObMYB-26</i> | 0.126 | <i>ObMYB-51</i> | -0.773** |
| <i>ObMYB-2</i> | -0.896** | <i>ObMYB-27</i> | 0.908** | <i>ObMYB-52</i> | 0.540 |
| <i>ObMYB-4</i> | 0.928** | <i>ObMYB-28</i> | -0.907** | <i>ObMYB-54</i> | -0.846** |
| <i>ObMYB-5</i> | 0.480 | <i>ObMYB-32</i> | 0.601* | <i>ObMYB-57</i> | -0.917** |
| <i>ObMYB-7</i> | -0.858** | <i>ObMYB-34</i> | 0.845** | <i>ObMYB-58</i> | 0.582* |
| <i>ObMYB-8</i> | 0.678* | <i>ObMYB-35</i> | -0.757** | <i>ObMYB-63</i> | -0.836** |
| <i>ObMYB-9</i> | 0.916** | <i>ObMYB-36</i> | 0.732** | <i>ObMYB-65</i> | -0.771** |
| <i>ObMYB-10</i> | -0.833** | <i>ObMYB-40</i> | -0.776** | <i>ObMYB-66</i> | 0.681* |
| <i>ObMYB-15</i> | -0.755** | <i>ObMYB-42</i> | 0.841** | <i>ObMYB-67</i> | -0.538 |
| <i>ObMYB-16</i> | -0.758** | <i>ObMYB-43</i> | -0.749** | <i>ObMYB-68</i> | -0.864** |
| <i>ObMYB-17</i> | 0.613* | <i>ObMYB-44</i> | -0.499* | <i>ObMYB-69</i> | 0.858** |
| <i>ObMYB-18</i> | -0.828** | <i>ObMYB-45</i> | -0.942** | <i>ObMYB-72</i> | -0.400 |
| <i>ObMYB-20</i> | -0.696* | <i>ObMYB-46</i> | 0.832** | <i>ObMYB-75</i> | 0.696* |
| <i>ObMYB-22</i> | 0.302 | <i>ObMYB-47</i> | 0.425 | | |
| <i>ObMYB-24</i> | -0.917** | <i>ObMYB-48</i> | -0.960** | | |

注：*表示显著相关 ($P < 0.05$)，**表示极显著相关 ($P < 0.01$)。

Note: * indicates significant correlation ($P < 0.05$), ** indicates extremely significant correlation ($P < 0.01$).

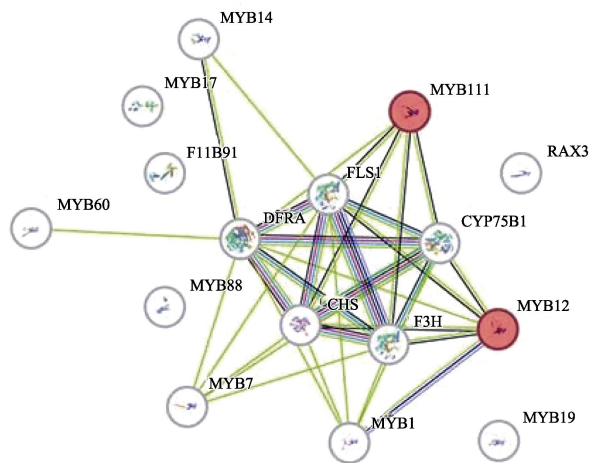


图 7 *ObMYB* 蛋白质互作网络

Fig. 7 Protein-Protein Interaction network of *ObMYB*

源于叶和茎组织，而部分 *ObMYB* 基因可能在疏柔毛罗勒的其他组织中特异性表达，这类潜在成员未被检测到。此外，基因组中片段复制和串联复制的频率较低^[28-29]及转座元件的丰度及活性不足^[30-31]等因素也可能导致 *ObMYB* 家族规模较小。

3.2 *ObMYB* 家族结构域及功能差异

将 *ObMYB* 家族的进化分析、蛋白基序、保守结构域结合研究，发现与其他研究^[29-32]类似，同一亚组中的蛋白基序在疏柔毛罗勒中的分布显

示出高度相似性，并且大多数基序规则地位于 N 端，推测同一亚组 *ObMYB* 发挥的功能类似且 N 端是其参与调控的主要区域。结合差异表达 *ObMYB* 基因和精油含量相关性分析，筛选到 14 个可能参与疏柔毛罗勒精油积累正相关的 *ObMYB* 基因，其编码的转录因子中 5 个属于第 4 亚组，其余基本集中在附近亚组，推测同一亚组的 *ObMYB* 在精油积累时发挥的功能可能较为一致。

在 10 个基序中 motif 1、motif 2 和 motif 3 高频率出现，推测这 3 个基序是 *ObMYB* 的特征基序，可能最为原始和保守。除此之外，只有少数 *ObMYB* 结构差异较大，如 *ObMYB-42*、*ObMYB-48*、*ObMYB-53* 和 *ObMYB-64* 只含有 motif 2，而 motif 9 是 *ObMYB-38*、*ObMYB-61*、*ObMYB-25*、*ObMYB-12* 及 *ObMYB-41* 所特有的基序，可能具有特定功能。由此表明 *ObMYB* 基因在保证核心结构高度保守的基础上进行了不同的进化历程。这种动态发展中维持同源性的进化模式也在其他研究中得到印证，拟南芥 MYB 转录因子 *AtMYB42* 和 *AtMYB85* 是平行同源物，其基因之间的编码区域具有高序列同源性，只存在于十字花科植物中，但在不同植物谱系中存在不同程度的基因丢失和保留^[33]。基因结构和基序的多样性是基因家族进化的重要组成部分，而内含

子的丢失和增加是基因结构多样性的主要原因^[34]。因此, 77 个 *ObMYB* 基因的不同结构对疏柔毛罗勒的进化具有重要意义, 有助于其编码的转录因子在进化中获得新功能, 更好地适应环境变化^[35]。

3.3 *ObMYB* 次生代谢调控机制

介导生物类黄酮合成酶的编码基因分为早期结构基因, 如 *CHS* (查尔酮合酶, chalcone synthase) 和 *F3H* (黄烷酮 3-羟化酶, flavanone 3-Hydroxylase) 基因以及晚期合成基因, 如 *DFR* (二氢黄酮醇 4-还原酶, dihydroflavonol 4-Reductase) 基因^[36]。已有研究证明 MYB111、MYB12、MYB11 在模式植物拟南芥中与 *CHS*、*F3H*、*FLS* (黄酮醇合酶, flavonol synthase) 相互作用^[37], 与对应启动子中的特定顺式元件结合, 进而激活它们的转录。近年来, 不断有新研究在当归^[38]、橄榄果实^[39]、四数九里香^[40]、梨果^[41]等植物中发现 MYB 与 *CHS*、*F3H*、*FLS* 蛋白在黄酮类代谢中有相互作用的关系。本研究分析差异表达 *ObMYB* 基因与疏柔毛罗勒精油积累的相关性及其编码 *ObMYB* 的功能, 得出部分正相关 *ObMYB* 与拟南芥 MYB111、MYB12 具有相当程度的相似性, 推断 *ObMYB* 家族也可以通过影响 *CHS*、*F3H*、*FLS* 转录, 调控黄酮醇类的合成^[42], 与李春香^[43]和 SHAN 等^[44]的结论相似。

根据 GO 和 KEGG 代谢通路富集分析结果, 推断 *ObMYB-4*、*ObMYB-9*、*ObMYB-34*、*ObMYB-36*、*ObMYB-46*、*ObMYB-69* 这 6 个基因编码的 *ObMYB* 可能参与黄酮类化合物产生, 促进疏柔毛罗勒精油累积从而提高其经济价值。其中 *ObMYB-36* 与拟南芥 MYB7 蛋白同源性较高, 初步推测其作用方式也与拟南芥 MYB7 类似, 可能抑制肉桂酸 4-羟化酶 (*C4H*) 和 4-香豆酸辅酶 A 连接酶 (*4CL*), 从而影响黄酮醇类的合成和促进萜类的累积, 与李晓敏等^[45]在百两金 MYB 中发现的结果类似。

参考文献

- [1] ABUHASHEM Y S, KHALIL H B, EL-TAHAWAY M A F A, SOLIMAN K A. Exploring the morphological and genetic diversity of Egyptian basil landraces (*Ocimum* sp.) for future breeding strategies[J]. Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences, 2023, 12(1): 70-83.
- [2] BELTRAME J M, ANGNES R A, CHIAVELLI L U R, DA COSTA W F, MONTANHER S F, DA ROSA M F, LOBO V D S, POMINI A M. Chemical composition of the essential oil obtained from *Ocimum basilicum* (Basil) cultivated in two regions from south Brazil[J]. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 2014, 17(4): 658-663.
- [3] SPENCE C. Sweet basil: an increasingly popular culinary herb[J]. International Journal of Gastronomy and Food Science, 2024(36): 100927-100935.
- [4] SINGH D, CHAUDHURI P K. A review on phytochemical and pharmacological properties of Holy basil (*Ocimum sanctum* L.)[J]. Industrial Crops and Products, 2018(118): 367-382.
- [5] MAJDI C, PEREIRA C, DIAS M I, CALHELHA R C, ALVES M J, RHOURE-FRIH B, CHARROUF Z, BARROS L, AMARAL J S, FERREIRA I C F R. Phytochemical characterization and bioactive properties of cinnamon basil (*Ocimum basilicum* cv. 'Cinnamon') and lemon basil (*Ocimum × citriodorum*)[J]. Antioxidants, 2020, 9(5): 369-385.
- [6] YIGITVAR I, HAYALOGLU A A. Study on production conditions, volatile composition, and chemical characteristics of herbal tea using Arapgir purple basil (*Ocimum basilicum* L.)[J]. Acta Alimentaria, 2022, 51(4): 571-583.
- [7] ANANDITO R B K, MAGHFIRA L L, PURNAMAYATI L, ANDANI S D. Active packaging based on tilapia skin gelatin added with lemon basil leaf extract[J]. Food Research, 2023(7): 107-117.
- [8] ZHANG J W, LI S K, WU W J. The main chemical composition and in vitro antifungal activity of the essential oils of *Ocimum basilicum* Linn. var. *pilosum* (Willd.) Benth[J]. Molecules, 2009, 14(1): 273-278.
- [9] HUSSAIN A I, ANWAR F, SHERAZI S T H, PRZYBYLSKI R. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations[J]. Food Chemistry, 2008, 108(3): 986-995.
- [10] 刘晓生, 王郁玲, 马瑞君, 刁远明, 张洁文, 吴清韩. 香叶天竺葵精油和罗勒精油的抗抑郁功效及其作用机制研究[J]. 天然产物研究与开发, 2021, 33(11): 1829-1835, 1945.
- [11] LIU X S, WANG Y L, MA R J, DIAO Y M, ZHANG J W, WU Q H. Antidepressant effect and mechanism of the essential oil from *Pelargonium graveolens* and *Ocimum basilicum* L.[J]. Natural Product Research and Development, 2021, 33(11): 1829-1835, 1945. (in Chinese)
- [11] 张晓炎, 吴小波, 崔丽朋, 周建华. 疏柔毛罗勒栽培管理及开发应用[J]. 农业科技通讯, 2024(10): 209-210, 220.
- ZHANG X Y, WU X B, CUI L B, ZHOU J H. Cultivation management and development applications of *O. basilicum*

- var. *pilosum*[J]. Bulletin of Agricultural Science and Technology, 2024(10): 209-210, 220. (in Chinese)
- [12] 何佳楠, 何叔年, 康桦华, 符德佳, 樊志红, 曾宪军, 陈杰, 彭新宇. 复方植物精油对黄羽肉鸡生产性能和肠道菌群的影响[J]. 广东农业科学, 2023, 50(6): 116-125.
HE J N, HE S N, KANG H H, FU D J, FAN Z H, ZENG X J, CHEN J, PENG X Y. Effect of compound plant essential oil on performance and intestinal microflora of yellow-feathered broilers[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2023, 50(6): 116-125. (in Chinese)
- [13] 吴炜俊, 梁喜丽, 陈伟澎, 黄宇豪, 范秀萍, 秦小明. 罗勒精油对运前暂养珍珠龙胆石斑鱼应激缓解作用[J]. 广东海洋大学学报, 2023, 43(2): 43-50.
WU W J, LIANG X L, CHEN W P, HUANG Y H, FAN X P, QIN X M. Stress-relieving effect of basil essential oil on temporarily cultured pearl gentian grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂) before transportation[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2023, 43(2): 43-50. (in Chinese)
- [14] 智亚楠, 赵筱岑, 常卫格, 王霄阳, 李甜甜, 陈利军. 罗勒和紫苏挥发油的化学组分及其抑菌活性分析[J]. 信阳农林学院学报, 2022, 32(2): 92-97.
ZHI Y N, ZHAO X C, CHANG W G, WANG X Y, LI T T, CHEN L J. Chemical components and antibacterial activity analysis of volatile oils from basil (*Ocimum basilicum*) and perilla (*Perilla frutescens*)[J]. Journal of Xinyang Agriculture and Forestry University, 2022, 32(2): 92-97. (in Chinese)
- [15] ZHELJAZKOV V D, CANTRELL C L, TEKWANI B, KHAN S I. Content, composition, and bioactivity of the essential oils of three basil genotypes as a function of harvesting[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(2): 380-385.
- [16] DA SILVA W M F, KRINGEL D H, DE SOUZA E J D, DE SOUZA E J D, DA ROSA ZAVAREZE E, DIAS A R G. Basil essential oil: methods of extraction, chemical composition, biological activities, and food applications[J]. Food and Bioprocess Technology, 2022, 15(1): 1-27.
- [17] RAWAT R, NEGİ K S, MEHTA P S, TIWARI V, VERMA S K, BISHT I S. Study of six varieties of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) and their morphological variations[J]. Journal of Non-Timber Forest Products, 2016, 23(1): 17-22.
- [18] YU C N, LUO X J, ZHANG C C, XU X Y, HUANG J F, CHEN Y Y, FENG S G, ZHAN X R, ZHANG L, YUAN H W, ZHENG B S, WANG H Z, SHEN C J. Tissue - specific study across the stem of *Taxus media* identifies a phloem - specific *TmMYB3* involved in the transcriptional regulation of paclitaxel biosynthesis[J]. The Plant Journal, 2020, 103(1): 95-110.
- [19] HAO X L, PU Z Q, CAO G, YOU D W, ZHOU Y, DENG C P, SHI M, NILE S H, WANG Y, ZHOU W, KAI G Y. Tan-shinone and salvianolic acid biosynthesis are regulated by *SmMYB98* in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots[J]. Journal of Advanced Research, 2020(23): 1-12.
- [20] 黄虹. 桑树 *MYB12* 和 *MYB308* 基因调控黄酮类化合物合成的功能解析及应用研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2022.
HUANG H. Function analysis and application of *MYB12* and *MYB308* genes of Mulberry in regulating flavonoid synthesis[D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2022. (in Chinese)
- [21] 周薇. 杨树 *MYB118L* 基因调控花青素合成机制研究[D]. 宜昌: 三峡大学, 2023.
ZHOU W. Molecular regulation mechanism of *MYB118-like* gene on anthocyanin synthesis in *Populus*[D]. Yichang: Three Gorges University, 2023. (in Chinese)
- [22] 崔占虎, 李淑娇, 满永宏, 李明杰, 古力, 张重义, 李孟芝, 黄显章, 王宇卿. 艾草 R2R3-MYB 转录因子家族成员的鉴定及表达分析[J]. 中国中药杂志, 2024, 49(16): 4407-4419.
CUI Z H, LI S J, MAN Y H, LI M J, GU L, ZHANG Z Y, LI M Z, HUANG X Z, WANG Y Q. Identification and expression analysis of members of R2R3-MYB transcription factors family in *Artemisia argyi*[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2024, 49(16): 4407-4419. (in Chinese)
- [23] 刘亚明, 杨涌, 康肖肖, 王萌, 王东升, 张海娥. 板栗 R2R3-MYB 基因家族的鉴定及表达分析[J/OL]. 中国农业科技导报, (2025-04-01)[2025-05-02]. <https://doi.org/10.3304/j.nykjdb.2024.0477>.
LIU Y M, YANG Y, KANG X X, WANG M, WANG D S, ZHANG H E. Identification and expression analysis of *R2R3-MYB* gene family in chinese chestnut[J/OL]. Journal of Agricultural Science and Technology, (2025-04-01)[2025-05-02]. <https://doi.org/10.13304/j.nykjdb.2024.0477>. (in Chinese)
- [24] 刘仕缘, 李冉, 上官小川, 郭增辉, 刘德斌, 李明顺, 翁建峰, 徐晶宇, 韩洁楠. 玉米 MYB-related 基因家族的生物信息学及表达特征分析[J/OL]. 分子植物育种, (2023-05-03)[2025-05-30]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230529.1414.026.html>.
- [25] LIU S Y, LI R, SHANGGUAN X C, GUO Z H, LIU D B, LI M S, WENG J F, XU J Y, HAN J N. Bioinformatics and expression analysis of MYB-related gene family in maize[J/OL]. Molecular Plant Breeding, (2023-05-03)[2025-05-30]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230529.1414.026.html>. (in Chinese)

- YE J B, ZHANG W W, XU F. Genome-wide identification of MYB gene family in peach and identification of MYBs involved in carotenoid biosynthesis[J]. *Forests*, 2024, 15(7): 1119-1136.
- [26] HU T X, LI Y, XIA Y F, MA, Y J. The MYB transcription factor family in *Eucommia ulmoides*: genome-wide identification, characterization, and network analysis in relation to the rubber biosynthetic genes[J]. *Forests*, 2023, 14(10): 2064.
- [27] 张斌. 银杏R2R3MYB基因家族鉴定及在花青素合成中的功能[J]. *农业生物技术学报*, 2025, 33(3): 561-569. .
ZHANG B. Identification of R2R3MYB gene family and its function in anthocyanin synthesis in *Ginkgo biloba*[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2025, 33(3): 561-569. (in Chinese)
- [28] BHARDWAJ E, LAL M, ANAND S, DAS S. Independent recurrent evolution of *microRNA* genes converging onto similar non-canonical organisation across green plant lineages is driven by local and segmental duplication events in species, family and lineages[J]. *Plant Science*, 2020, 301: 110661-110682.
- [29] KATIYAR A, SMITA S, LENKA S K, RAJWANSHI R, CHINNUSAMY V, BANSAL K C. Genome-wide classification and expression analysis of MYB transcription factor families in rice and *Arabidopsis*[J]. *BMC Genomics*, 2012, 13(1): 544-562.
- [30] ZHANG S J, LIU L, YANG R, WANG X F. Genome size evolution mediated by *Gypsy* retrotransposons in *Brassicaceae*[J]. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 2020, 18(3): 321-332.
- [31] NAVILLE M, HENRIET S, WARREN I, SUMICS, REEVE M, VOLFF J N, CHOURROU D. Massive changes of genome size driven by expansions of non-autonomous transposable elements[J]. *Current Biology*, 2019, 29(7): 1161-1168.
- [32] WANG J, LIU Y, TANG B Q, DAI X Z, XIE L L, LIU F, ZOU X X. Genome-wide identification and capsaicinoid biosynthesis-related expression analysis of the R2R3-MYB gene family in *Capsicum annuum* L.[J]. *Frontiers in Genetics*, 2022(11): 598183-598194.
- [33] YADAV S, CHAHAR N, LAL M, DAS S. Phylogenetic and comparative genomics establishes origin of paralogy between homologs of *AtMYB42* and *AtMYB85* in last common ancestor of *Brassicaceae* via segmental duplication[J]. *Plant Gene*, 2023(35): 100424-100440.
- [34] ZOU C, LI L, MIKI D, LI D L, TANG Q M, XIAO L H, RAJPUT S, DENG P, PENG L, JIA W, HUANG R, ZHANG M L, SUN Y D, HU J M, FU X, SCHNABLE P S, CHANG Y X, LI F, ZHANG H, FENG B L, ZHU X G, LIU R Y, SCHNABLE J C, ZHU J K, ZHANG H. The genome of broomcorn millet[J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1): 436-446.
- [35] FAN K, LI F, CHEN J H, LI Z W, LIN W W, CAI S, LIU J P, LIN W X. Asymmetric evolution and expansion of the *nac* transcription factor in polyploidized cotton[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018(9): 47-61.
- [36] 李瑾瑜. 生物类黄酮: 花青素合成与转录因子的关系[J]. *广东蚕业*, 2019, 53(12): 41-42.
LI J Y. Bioflavonoids: The relationship between anthocyanin synthesis and transcription factors in flavonoids[J]. *Guangdong Sericulture*, 2019, 53(12): 41-42. (in Chinese)
- [37] STRACKE R, ISHIHARA H, HUEP G, BARSCH A, MEHRTENS F, NIEHAUS K, WEISSHAR B. 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.
- [38] ZHU C H, BAI Y, JIANG Y, ZHANG Y F, WANG S T, WANG F S, SUN Z R. Integrated transcriptomic and metabolomic analysis reveals the regulation mechanism of early bolting and flowering in two cultivars of *Angelica sinensis*[J]. *Heliyon*, 2024, 10(7): 28636-28650.
- [39] LAI R L, SHEN C G, FENG X, GAO M X, ZHANG Y Y, WEI X X, CHEN Y T, CHENG C Z, WU R J. Integrated metabolomic and transcriptomic analysis reveals differential flavonoid accumulation and its underlying mechanism in fruits of distinct *Canarium album* cultivars[J]. *Foods*, 2022, 11(16): 2527-2546.
- [40] 邢琴琴. 四数九里香叶片类黄酮累积规律及 CHS 功能分析[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2024.
XING Q Q. Flavonoid accumulation pattern in leaves of *Murraya tetramera* Huang and CHS function analysis[D]. Changsha: Central South University of Forestry and Technology, 2024. (in Chinese)
- [41] ZHAI R, ZHAO Y X, WU M, YANG J, LI X Y, LIU H T, WU T, LIANG F F, YANG C Q, WANG Z G, MA F W, XU L F. The MYB transcription factor PbMYB12b positively regulates flavonol biosynthesis in pear fruit[J]. *BMC Plant Biology*, 2019, 19(1): 85-95.
- [42] MEHRTENS F, KRANZ H, BEDNAREK P, WEISSHAR B. The *Arabidopsis* transcription factor MYB12 is a flavonol-specific regulator of phenylpropanoid biosynthesis[J]. *Plant Physiology*, 2005, 138(2): 1083-1096.
- [43] 李春香. 泡核桃黄酮醇合成相关 MYB 转录因子的克隆及功能验证[D]. 贵阳: 贵州大学, 2023.
LI C X. Cloning and functional verification of MYB transcription factors related to flavonol synthesis in *Juglans*

- sigillata* Dod[D]. Guiyang: Guizhou University, 2023. (in Chinese)
- [44] SHAN X T, LI Y Q, YANG S, YANG Z Z, QIU M, GAO R F, HAN T T, MENG X Y, XU Z Y, WANG L, GAO X. The spatio - temporal biosynthesis of floral flavonols is controlled by differential phylogenetic MYB regulators in *Freesia hybrida*[J]. *New Phytologist*, 2020, 228(6): 1864-1879.
- [45] 李晓敏, 赵春艳, 孙静贤, 杨青松, 高路, 熊勇. 百两金萜类代谢相关 MYB 转录因子挖掘及分析[J]. *云南民族大学学报(自然科学版)*, 2022, 31(6): 659-668.
- LI X M, ZHAO C Y, SUN J X, YANG Q S, GAO L, XIONG Y. Mining and functional analysis of MYB transcription factors associated with terpenoid metabolism in *Ardisia crispa*[J]. *Journal of Yunnan Minzu University (Natural Sciences Edition)*, 2022, 31(6): 659-668. (in Chinese)