

玉米转录因子基因 *ZmMYB308* 的 克隆及表达分析

王新涛¹, 杨 青², 代资举³, 李保叶¹, 郝俊杰^{1*}

(1 河南省农业科学院 植物保护研究所, 郑州 450002; 2 河南省农业科学院 芝麻研究中心, 郑州 450002; 3 河南省作物分子育种
研究院, 郑州 450002)

摘 要: MYB 类转录因子广泛地参与了植物生长发育的许多重要过程, 在调控木质素合成途径中也起着重要作用。为探索 MYB 转录因子在玉米发育中的功能, 该研究利用玉米茎秆转录组测序数据, 对玉米茎秆发育过程中差异表达的 MYB 转录因子进行筛选和分析, 在此基础上, 通过 RT-PCR 方法克隆获得了 *ZmMYB308* 基因。结果表明: (1) 共检测到 14 个差异表达的 MYB 转录因子, 其中 10 个下调表达, 4 个上调表达。 (2) *ZmMYB308* 基因包含一个 747 bp 的开放阅读框, 可编码 248 个氨基酸, 相对分子质量 27.01 kD, 等电点为 9.17; 系统进化树比对表明, 玉米 *ZmMYB308* 蛋白和谷子 *SiMYB308* 蛋白的亲缘关系较近, 相似性高达 94%。 (3) 实时荧光定量 PCR 结果显示, *ZmMYB308* 在玉米不同发育时期和不同组织中的表达差异显著, 且 *ZmMYB308* 基因的表达随着玉米茎秆发育的推进呈先升高后降低的趋势, 在吐丝期表达量达到最高, 随后在灌浆期显著下降; 不同组织定量分析显示, *ZmMYB308* 基因在木质素含量高的茎秆和根中高表达。研究推测, *ZmMYB308* 基因可能在玉米茎秆发育过程中起着重要作用, 该研究结果为进一步探索玉米木质素合成的分子机制奠定了基础。

关键词: 玉米; MYB 转录因子; *ZmMYB308*; 荧光定量 PCR

中图分类号: Q785; Q786; Q789

文献标志码: A

Cloning and Expression Analysis of Transcription Factor Gene *ZmMYB308* in Maize

WANG Xintao¹, YANG Qing², DAI Ziju³, LI Baoye¹, HAO Junjie^{1*}

(1 Plant Protection Institute, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China; 2 Sesame Research Center,
Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China; 3 Henan Academy of Crop Molecular Breeding, Zhengzhou
450002, China)

Abstract: MYB transcription factors are widely involved in plant growth and development, and also play an important role in regulating lignin synthesis. In this study, in order to explore the role of MYB transcription factor in maize development, the differentially expressed MYB transcription factor genes were screened and analyzed based on the transcriptome sequencing data of maize stems, and the *ZmMYB308* gene was cloned by RT-PCR method. The results showed that: (1) a total of 14 differentially expressed MYB transcription factor genes were detected in different periods, among which 10 were down-regulated and 4 were up-regulated. (2) *ZmMYB308* contains a 747 bp open reading frame, which encodes a 248 ami-

收稿日期: 2021-01-29; 修改稿收到日期: 2021-04-20

基金项目: 河南省科技攻关计划(192102110026, 202102110155); 河南省农业科学院科技发展专项(2020CY011, 2020YQ33)

作者简介: 王新涛(1983—), 男, 博士, 助理研究员, 主要从事玉米分子遗传育种。E-mail: tao-450002@163.com

* 通信作者: 郝俊杰, 博士, 研究员, 主要从事玉米病害研究。E-mail: haojids@163.com

no acids polypeptide with a protein molecular weight of about 27.01 kD and a theoretical isoelectric point of 9.17. Blast results showed that *ZmMYB308* was closely related to *SiMYB308* of foxtail millet with 94% similarity. (3) The results of real time quantitative PCR analysis showed that *ZmMYB308* was significantly differentially expressed in different development periods and tissues. The expression of the *ZmMYB308* first increased gradually and then decreased with the development of maize stem, and reached the peak at the silking stage. Meanwhile, *ZmMYB308* was highly expressed in maize stems and roots which had lignin content. The results indicated that *ZmMYB308* might play an important role in the regulation of stem growth and development. This work lays the foundation for further exploring the molecular regulatory mechanism of lignin synthesis in maize.

Key words: maize; MYB transcription factor; *ZmMYB308*; RT-PCR

玉米是中国最重要的粮食作物之一,近年来玉米生产规模化程度提高,对于玉米品种适应全程机械化的要求也越来越迫切,而玉米茎秆倒伏是制约中国玉米机械化收获发展的主要因素之一^[1];同时随着全球极端气候发生频率的不断增多,对于玉米品种的稳产抗倒性要求也越来越高。研究表明,全世界每年因倒伏引起的玉米产量损失估计达到 5%~20%,倒伏不仅严重影响玉米产量而且制约着玉米机械化收获程度的提高^[2-4]。木质素是构成次生细胞壁的主要成分之一,适当提高木质素含量可以增强玉米茎秆抗折力,从而降低倒伏引起的损失^[5-6]。

MYB 转录因子作为植物中重要的转录因子家族之一,广泛地参与调节了植物生长发育的许多重要过程,如调控基因转录、维持细胞结构、信号通路传导和生物及非生物胁迫的生理响应等^[7]。MYB 类蛋白的 N 端通常含有约 51~52 个氨基酸组成的高度保守的 MYB 结构域, C 端为转录激活结构域;根据所含 MYB 结构域的数量和位置, MYB 转录因子可分为 1R-MYB、R2R3-MYB、3R-MYB 和 4R-MYB 四个亚类; 1R-MYB 又被称为 MYB-related 亚类,只包含一个 R 结构域,在维持细胞完整性和周期节律方面发挥着重要作用; R2R3-MYB 是数量最多的亚类,广泛参与植物的生长发育和代谢途径调节等过程; 3R-MYB 亚类在植物中的数量相对较少,它们主要是参与细胞周期运行以及细胞分化; 4R-MYB 亚类在 MYB 转录因子基因家族中是最小的一类,对其功能的研究目前还很少^[8]。

通过苯丙烷途径合成的木质素是构成植物骨架的主要成分之一,多个 MYB 转录因子在木质素合成途径中起着重要的调节作用^[9]。拟南芥中次生细胞壁相关蛋白 *AtSND1* 通过调控下游的 *AtMYB83* 和 *AtMYB46*,进而诱导 *AtMYB58*、*AtMYB63* 和 *AtMYB85* 的表达,最终引起相关木质素合成基因

上调^[10-11];桉树 MYB2 蛋白通过直接与苯丙烷途径中 *CCR* 和 *CAD* 基因的启动子结合,从而影响木质素和次生壁的形成^[12];水稻 *OsMYB46* 在拟南芥中过表达可以激活次生壁的合成途径^[13]。这些不同的 MYB 成员通过正向或负向作用机制有效调控木质素的合成,因此,加强对 MYB 家族基因的相关研究具有重要的现实意义。

玉米 MYB 转录因子在茎秆中参与木质素生物合成的研究相对较少,对 *ZmMYB308* 基因的研究还未见报道。本研究利用玉米自交系‘郑 58’不同发育阶段的茎秆转录组数据,初步筛选出差异表达的 MYB 转录因子并进行分析,以‘郑 58’茎秆为材料,克隆了玉米 *ZmMYB308* 基因,对该基因进行了生物信息学特征分析,利用荧光定量 PCR 分析 *ZmMYB308* 在玉米不同部位与不同发育时期的表达模式,以期为玉米高茎秆强度基因筛选及分子育种应用提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

以玉米优良自交系‘郑 58’为材料^[14],种植行长 2 m,行距 0.6 m,株距 0.25 m。2018 年 6 月在河南省农业科学院原阳基地播种,出苗后正常田间管理,分别取 6 叶期、拔节期、大喇叭口期、吐丝期和灌浆期(吐丝后 10 d)的玉米茎秆,在玉米吐丝期取茎、根、叶、花丝、雄穗和雌穗等不同组织为样品,经液氮速冻后于 -80 ℃超低温冰箱保存备用,每个样品 3 个生物学重复。

1.2 方法

1.2.1 茎秆穿刺强度测定 在玉米吐丝期和灌浆期进行茎秆穿刺强度测定,利用 YYD-1 型数显植物茎秆强度测定仪(浙江托普仪器有限公司)选择地上部第 3 节间中部,对玉米茎秆进行穿刺,瞬间读取并记录数据(N/mm²),每个时期连续选取 5 株进行

测定。

1.2.2 转录组测序及差异表达基因筛选 根据‘郑58’茎秆强度变化,选择其具有显著差异时期(抽雄期和灌浆期)的茎秆(地上部第3节间)进行采样,采集的样品(3次生物学重复)送至北京诺禾致源科技股份有限公司进行转录组测序和分析。

分别提取各样品总 RNA 并检测合格后,依次进行 Oligo(dT)磁珠富集、mRNA 反转录、cDNA 文库构建和 Illumina 平台测序,参考玉米 B73(Ref-Gen_v4)基因组序列,进行序列组装、比对和功能注释等相关分析。基因表达量采用 FPKM (fragments per kilobase of exon model per million mapped reads)计算^[15],利用 DEseq 分析差异基因,以差异倍数 $|\log_2(\text{Fold change})| > 1$ 且错误检出率 (FDR) < 0.05 为标准筛选吐丝期和灌浆期茎秆中差异表达的 MYB 转录因子基因。

1.2.3 玉米 RNA 提取及 cDNA 第 1 链合成 各样品经液氮研磨后利用 TRNzol 法提取总 RNA,1% 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性。以不同玉米样品总 RNA 为模板,使用 PrimeScript RT-PCR Kit (TaKaRa)试剂盒,反转录获得玉米 cDNA 第一链。

1.2.4 玉米 *ZmMYB308* 基因的克隆 根据转录组筛选的差异表达候选基因及在 NCBI 上比对筛选,在 GenBank 中获得一条具有完整开放阅读框 (open reading frame, ORF) 的玉米 MYB308 序列,利用 Primer Premier 5.0 软件设计用于扩增 *ZmMYB308* 特异引物 *ZmMYB308-F* (TCTTC-CGTTTCCGTCTCCC)和 *ZmMYB308-R* (CGACG-ACGCCTGCCTTAT)。以‘郑58’茎秆 cDNA 为模板进行全长扩增。

1.2.5 生物信息学分析 利用 NCBI 的 ORF finder (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>) 工具预测基因 ORF 区、CCD (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>) 工具进行

蛋白序列保守结构域分析;利用 cNLS Mapper(<http://nls-mapper.iab.keio.ac.jp/>)分析基因核定位信号肽;使用 ExPASy 的 Compute pI/MW(http://www.expasy.org/tools/pi_tool.html)工具计算蛋白序列的分子量及等电点;利用 DNAMAN9 软件进行蛋白翻译和序列比对。

1.2.6 荧光定量 PCR 表达分析 根据转录组筛选获得的差异候选基因序列设计荧光定量引物,玉米肌动蛋白基因(β -Actin)为内参基因(表 1)。以玉米不同部位和不同时期的茎秆 cDNA 为模板,反应体系为 15 μ L,其中 cDNA 模板 1 μ L,上下游引物各 0.6 μ L、SYBR Premix Ex Taq (TaKaRa) 7.5 μ L、ddH₂O 5.3 μ L。在荧光定量 PCR 仪(Bio-Rad Miniopticon Real-Time PCR System)上进行扩增,定量 PCR 程序:95 $^{\circ}$ C 预变性 2 min,95 $^{\circ}$ C 变性 10 s,58 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 25 s,并收集荧光信号,40 个循环。基因的相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 算法进行分析。

2 结果与分析

2.1 差异表达 MYB 转录因子的筛选及分析

‘郑58’在吐丝期的茎秆穿刺强度为 25.87 N/mm²,在灌浆期的茎秆穿刺强度为 30.23 N/mm²。对吐丝期与灌浆期的茎秆 MYB 转录因子基因数目进行统计分析(表 2),获得 14 个差异表达 MYB 转录因子基因,分别位于玉米的 1、2、3、5、6、7、8 和 10 染色体,其中 10 个表达量下降,4 个表达量上升。荧光定量 PCR 分析结果(图 1,部分结果)显示,MYB39/MYB59(下调)和 MYB4/MYB126(上调)在吐丝期和灌浆期茎秆中的表达趋势与转录组数据分析结果趋势相符,验证了转录组基因表达数据的可靠性。

根据 SANT 保守结构域的数目进行分类,这些差异表达的 MYB 转录因子包含 2 个 1R-MYB 和 12

表 1 荧光定量 PCR 分析的候选基因及其引物序列
Table 1 Candidate gene and primer sequences used for qRT-PCR

基因名称 Gene name	正向引物 Forward primer	反向引物 Reverse primer
MYB4	GTGCTGCGAGAAGATGGG	CGTGAGGCTGATGATGG
MYB126	AGCAGCAGCAGGAGGAAGA	CCGTGACAGCATCGGAAGT
MYB59	AGCGTCGTCCGTGACTACCA	GCCGCGATGTCGTTCCA
MYB39	AGAGCGGGCTGAAGAAAGGG	CGGATGTGCGTGTTCAGTAG
MYB308	TTCTTCCGTTTCCGTCTCCC	CGCTGGTCCTCTCTCTTGGT
β -Actin	CCCTGAGGTTCTATTCCAGCC	CCAGGGAACATAGTGGAGCC

表 2 差异表达 MYB 转录因子基因信息

Table 2 The information of differentially expressed MYB transcription factor genes

基因名称 Gene name	基因 ID Gene ID	分子量 Molecular weight/kD	等电点 pI	染色体 Chr	log ₂ (灌浆期 vs 吐丝) Grain filling stage vs Silking stage	转录因子分类 Type	
下调表达 Down-regulated expression	Putative <i>MYB</i>	GRMZM5G887276	46.20	8.73	1	−2.14	1R-MYB
	<i>MYB4</i>	GRMZM2G048295	31.78	5.42	2	−2.50	R2R3-MYB
	<i>MYB308</i>	GRMZM2G405094	27.01	9.17	8	−2.98	R2R3-MYB
	<i>MYB30</i>	GRMZM2G171781	47.01	5.96	10	−1.86	R2R3-MYB
	<i>MYB46</i>	GRMZM2G150841	36.94	6.55	7	−3.18	R2R3-MYB
	<i>MYB126</i>	GRMZM2G001223	35.58	8.43	5	−7.84	R2R3-MYB
	<i>MYB85</i>	GRMZM2G077789	27.93	9.15	6	−2.99	R2R3-MYB
	<i>MYB-IF35</i>	GRMZM2G051256	38.58	4.58	3	−4.65	R2R3-MYB
	<i>MYB15</i>	Zm00001d025864	30.26	6.46	10	−4.128	R2R3-MYB
	<i>MYB-PHL6</i>	Zm00001d014701	50.1	6.04	5	−2.67	R2R3-MYB
上调表达 Up-regulated expression	<i>MYB59</i>	GRMZM2G305856	27.93	7.05	6	1.32	1R-MYB
	<i>MYB22</i>	GRMZM2G096358	39.22	6	8	1.53	R2R3-MYB
	<i>MYB39</i>	GRMZM2G031323	40.89	6.5	7	2.45	R2R3-MYB
	<i>MYB2</i>	GRMZM2G009060	40.23	7	1	1.49	R2R3-MYB

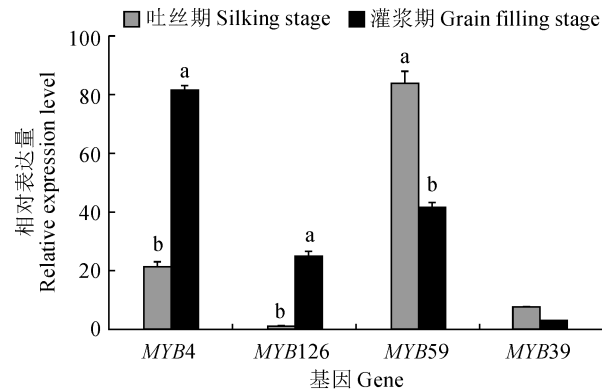


图 1 玉米吐丝期和灌浆期 MYB 部分基因的相对表达

Different normal letters represent significant differences at 0.05 level

Fig. 1 Relative expression of some MYB genes in the silking stage and grain filling stage

个 R2R3-MYB 亚类, 没有发现 3R-MYB 和 4R-MYB。对蛋白序列分析发现, 茎秆差异表达的 MYB 蛋白家族分子量在 27.01~50.1kD 之间, 等电点为 4.58~9.17。这些结果说明随着玉米茎秆的生长发育, 各 MYB 转录因子的表达出现差异化。

2.2 玉米 *ZmMYB308* 基因 cDNA 的克隆

根据以上转录组差异基因分析数据, 再结合其他植物 MYB308 类基因在茎秆木质素合成途径中的负调控作用模式^[16-17], 选取在吐丝期和灌浆期显

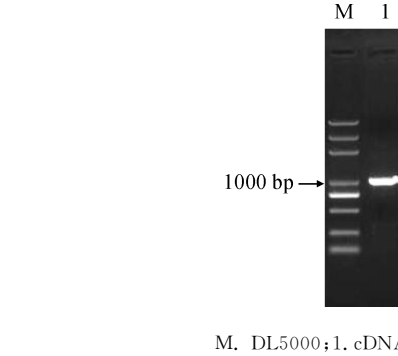


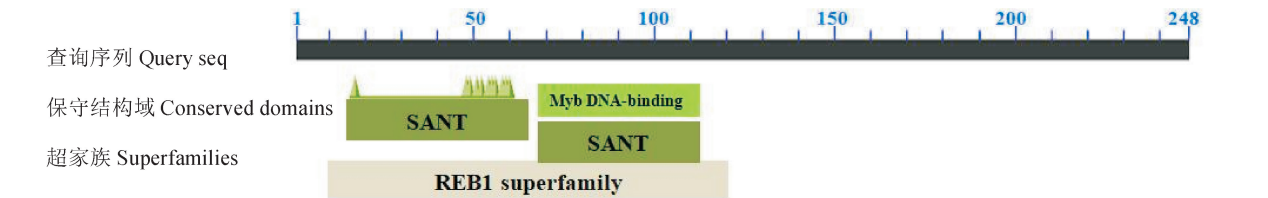
图 2 *ZmMYB308* 基因 cDNA 扩增

Fig. 2 PCR product of *ZmMYB308* cDNA

著下调表达的玉米 MYB308 基因进行后续试验分析。以玉米自交系‘郑 58’的茎秆 cDNA 为模板, 经 PCR 扩增获得玉米 *ZmMYB308* 的 cDNA 序列(图 2)。其 cDNA 全长 907 bp, 包含一个 747 bp 的 ORF, 编码 248 个氨基酸。通过 MaizeGDB 数据库 Blast 序列分析发现, *ZmMYB308* 基因位于玉米第 8 染色体的 bin8.08 区域, 包含 2 个外显子和 1 个内含子。

2.3 玉米 *ZmMYB308* 基因的生物信息学分析

经 ExPASyProtParam 预测 *ZmMYB308* 蛋白分子量为 27.01 kD, 等电点为 9.17, 分子式为 C₁₁₇₉H₁₈₇₄N₃₅₄O₃₄₉S₁₃, 不稳定系数为 61.67, 蛋白疏水性指数为−0.533, 脂肪系数为 69.8, 说明该蛋白为不稳定的亲水性蛋白。利用 cNLS Mapper 预测在蛋白 N 端有一段核定位信号(图 3)。通过 NCBI

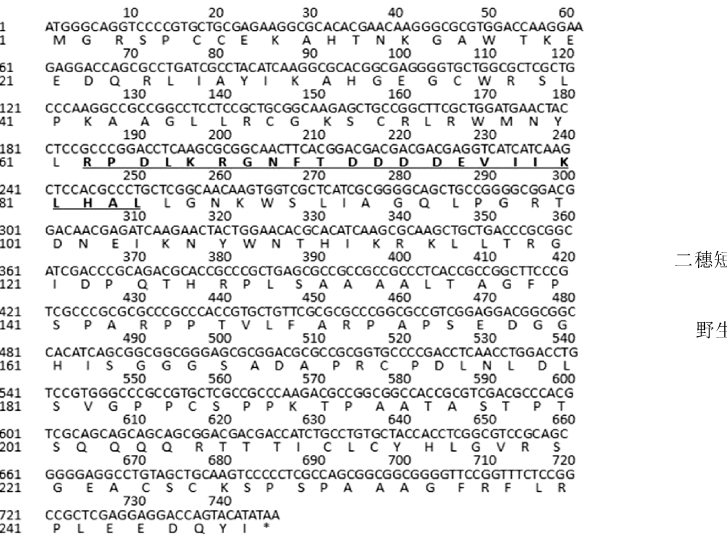


SANT 结构域, Myb DNA-binding 结构域, REB1 超家族

图 4 ZmMYB308 蛋白功能性位点分析

SANT domain, Myb DNA-binding domain, REB1 superfamily

Fig. 4 Conserved domain analysis of ZmMYB308 protein



下划线为核定位信号

图 3 ZmMYB308 基因开放阅读框及预测氨基酸序列

The nuclear localization signal is underlined

Fig. 3 ORF of ZmMYB308 gene and predicted amino acid sequence

分析 CDD 功能结构域发现 ZmMYB308 蛋白 N 端具有 2 个保守的 DNA 结合结构域(图 4),属于典型的 R2R3-MYB 亚类转录因子。

2.4 ZmMYB308 同源及进化分析

利用 NCBI 数据库的 BlastP 在线检索筛选其他植物的 MYB308 蛋白序列,选取了桉树(XP_010090332.1)、白杨(XP_009376958.1)和二穗短柄草(XP_003564745.1)等共 14 个同源序列,通过 DNAMAN9.0 将玉米 ZmMYB308 与其他植物的 MYB308 蛋白序列对比,建立了一个无根分子系统进化树(图 5)。比对显示 MYB308 类蛋白序列在 N 端高度保守,而 C 端的序列保守性较低,系统进化分析将 15 个不同植物的 MYB308 蛋白划分为 2 组,其中 ZmMYB308 与谷子、高粱和二穗短柄草等 MYB308 蛋白聚为一类,且与谷子的相似性最高,达到 94%。

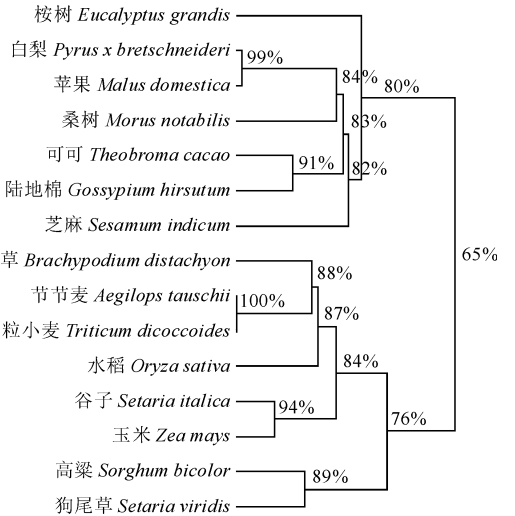


图 5 不同物种间 MYB308 蛋白的进化树

Fig. 5 Phylogenetic tree of MYB308 protein homologues from different species

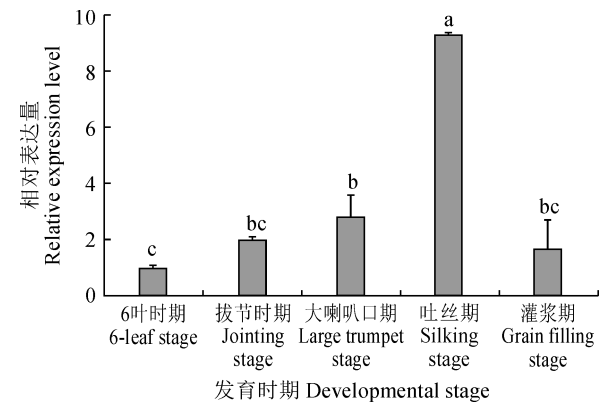
2.5 玉米 ZmMYB308 基因的表达分析

为揭示玉米不同发育时期在茎秆中 ZmMYB308 基因的表达特性,分别对‘郑 58’不同发育时期茎秆中该基因的表达进行分析,结果(图 6)表明,ZmMYB308 随着玉米发育的推进呈先升高后降低的趋势,在吐丝期表达量最高,随后在灌浆期下降,其变化趋势与茎秆转录组测序结果趋势一致。

为了揭示 ZmMYB308 在玉米不同组织中的表达情况,在玉米吐丝期对不同组织进行实时荧光定量分析,结果(图 7)表明 ZmMYB308 在玉米不同组织中均有表达,在玉米茎秆中的表达量最高,根、雌穗、雄穗、叶片中的表达量次之,花丝中的表达量最低,其茎秆中的表达量约为花丝中的 7.5 倍。

3 讨论

随着转录组测序技术的不断进步,在基因水平上对整体转录活动进行实时检测,从而完整分析不同的代谢通路和验证基因功能变得越来越高效快捷^[18-19]。近年来,人们在拟南芥、水稻和玉米等多种

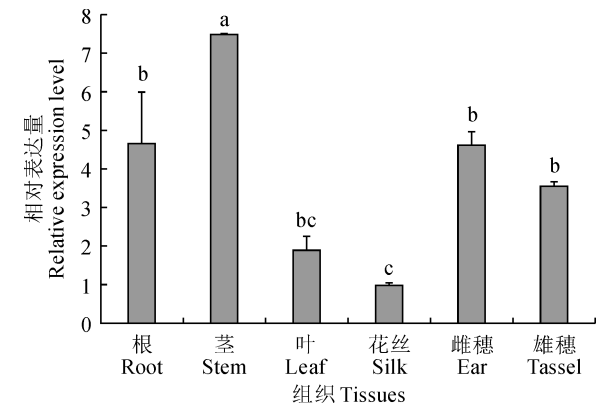


不同小写字母代表 0.05 水平差异显著

图 6 *ZmMYB308* 在玉米不同发育时期的表达

Different normal letters represent significant differences at 0.05 level

Fig. 6 The expression pattern of *ZmMYB308* in different development stages



不同小写字母代表 0.05 水平差异显著

图 7 *ZmMYB308* 在不同组织的表达

Different normal letters represent significant differences at 0.05 level

Fig. 7 Relative abundance of *ZmMYB308* transcripts in different tissues

植物的不同发育过程进行了大量的转录组分析,从不同角度解析了目的基因及其调控基因的调控网络^[20-22]。本研究通过转录组测序和分析,在不同发育时期的玉米茎秆中鉴定出 14 个差异表达 MYB 转录因子,在此基础上,采用 RT-PCR 技术克隆了玉米 R2R3-MYB 类转录因子 *ZmMYB308* 基因,并对其生物信息学与时空表达特性进行了分析。

2R-MYB 亚类作为 MYB 转录因子的主体,可以通过激活木质素合成途径的相关基因来实现对木质素合成的正向调控;在拟南芥中,MYB58 能够直接激活木质素生物合成基因(*PAL1*、*C4H* 和 *4CL1* 等)和次生壁相关漆酶基因(*LAC4*)的表达进而参

与了木质素的生物合成途径^[10];在杨树中,过量表达 *PtrMYB2*、*PtrMYB3*、*PtrMYB20* 和 *PtrMYB21* 基因可以引起次生壁的异位沉积,导致次生壁增厚^[23]。也有多个 2R-MYB 亚类转录因子是负向调控木质素合成的:在拟南芥中过表达玉米 *ZmMYB31*、*ZmMYB42* 基因可以抑制木质素合成途径中的多个基因,从而降低组织中的木质素含量^[24-25];银合欢 *LiMYB1* 过表达抑制了苯丙烷途径基因的表达水平,从而引起木质素含量的降低^[26];金鱼草中 *AmMYB308* 和 *AmMYB330* 共同作用可降低木质素的积累^[16]。本研究通过转录组分析玉米吐丝期和灌浆期茎秆中 MYB 转录因子表达量变化,鉴定出差异表达的 MYB 转录因子中 2R-MYB 亚类占到 85.71%,因此推测这些差异表达的 MYB 转录因子,特别是 2R-MYB 亚类转录因子正向或负向地参与了玉米茎秆木质素的生物合成,进一步克隆这些玉米的 MYB 类转录因子,将有助于全面了解这类基因的功能。

作为 MYB 家族成员的 MYB308 及其同源基因在多种作物中被证实能够调控影响木质素合成途径的相关基因^[16-17]。本研究从玉米中克隆得到 *ZmMYB308* 基因,生物信息学分析显示 *ZmMYB308* 蛋白与其他已报道的 MYB308 类基因的蛋白保守结构域具有较高的相似性,在其 N 端具有家族典型的 MYB 保守结构域和核定位信号,玉米 *ZmMYB308* 转录因子可能在细胞核中与其他基因互作并调控其下游基因。*ZmMYB308* 基因在不同部位是组成型表达的,在茎中表达量最高,并且 *ZmMYB308* 随着茎秆发育在吐丝期达到峰值后下降,同 *PgMYB308* 基因在石榴中的表达趋势类似^[24]。结合‘郑 58’茎秆强度的表型变化,*ZmMYB308* 基因可能和金鱼草 *AmMYB308*、石榴 *PgMYB308* 基因一样在木质素合成过程中起着负调控作用。研究还发现 *ZmMYB31* 表达受低温诱导,过表达 *ZmMYB31* 能增强植株对低温胁迫的耐受性^[27],苹果 *MdMYB308* 基因在调控苹果花青苷合成中起着重要作用^[28],小桐子 *JcMYB308* 基因在根与茎中对低温做出响应^[29],紫斑白三叶 *TrMYB308* 参与类黄酮次生代谢生物合成调控^[30],本研究中 *ZmMYB308* 在根、雌穗中的表达量高于叶片和花丝,暗示了玉米 *ZmMYB308* 基因可能还具有其他重要功能和作用机制,需要进一步深入研究。

本研究通过 RNA-Seq 测序和数据分析发现,

在获得的玉米茎秆转录组数据中除 MYB 转录因子外还存在其他差异表达基因,挖掘和解析这些重要基因的功能有助于进一步提高对玉米木质素合成机

制的认识,也为利用分子生物学手段培育高茎秆强度玉米品种奠定了基础。

作者贡献:王新涛和郝俊杰是本研究的实验设计和实验研究的执行人;王新涛和李保叶完成数据分析和论文初稿的写作;杨青和代资举参与实验设计与实验所得数据分析;郝俊杰是本研究的的构思者及负责人,指导数据分析,论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

参考文献:

[1] 房海悦,李毅丹,曲文丽,等. 玉米倒伏影响因素及其 QTL 定位研究进展[J]. 东北农业科学, 2016, **41**(5): 42-45.
FANG H Y, LI Y D, QU W L, *et al.* Advances in influencing factors and QTL mapping of maize lodging[J]. *Journal of Northeast Agricultural Sciences*, 2016, **41**(5): 42-45.

[2] 勾 玲,黄建军,张 宾,等. 群体密度对玉米茎秆抗倒力学和农艺性状的影响[J]. 作物学报, 2007, **33**(10): 1 688-1 695.
GOU L, HUANG J J, ZHANG B, *et al.* Effects of population density on stalk lodging resistant mechanism and agronomic characteristics of maize[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2007, **33**(10): 1 688-1 695.

[3] 陈艳军,吴科斌,张俊雄,等. 玉米秸秆力学参数与抗倒伏性能关系研究[J]. 农业机械学报, 2011, **42**(6): 89-92.
CHEN Y J, WU K B, ZHANG J X, *et al.* Relationship between corn lodging resistance and mechanical parameters[J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2011, **42**(6): 89-92.

[4] 崔海岩,靳立斌,李 波,等. 遮阴对夏玉米茎秆形态结构和倒伏的影响[J]. 中国农业科学, 2012, **45**(17): 3 497-3 505.
CUI H Y, JIN L B, LI B, *et al.* Effects of shading on stalks morphology, structure and lodging of summer maize in field [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, **45**(17): 3 497-3 505.

[5] 朱丽斌,祁炳琴,李碧霞,等. 玉米茎秆强度形成与木质素积累关系的研究[J]. 西北植物学报, 2020, **40**(8): 1 389-1 395.
ZHU L B, QI B Q, LI B X, *et al.* Study on the relationship between stalk strength formation and lignin accumulation in maize[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2020, **40**(8): 1 389-1 395.

[6] 马延华,孙德全,李绥艳,等. 玉米乳熟期茎秆木质素含量的遗传分析[J]. 玉米科学, 2016, **24**(1): 19-23.
MA Y H, SUN D Q, LIS Y, *et al.* Genetic analysis of lignin content in maize stalk at milk stage[J]. *Journal of Maize Sci-*

ences, 2016, **24**(1): 19-23.

[7] 王 彬,陈敏氢,林 亮,等. 植物干旱胁迫的信号通路及相关转录因子研究进展[J]. 西北植物学报, 2020, **40**(10): 1 792-1 806.
WANG B, CHEN M D, LIN L, *et al.* Signal pathways and related transcription factors of drought stress in plants[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2020, **40**(10): 1 792-1 806.

[8] DUBOS C, STRACKE R, GROTEWOLD E, *et al.* MYB transcription factors in *Arabidopsis*[J]. *Trends in Plant Science*, 2010, **15**(10): 573-581.

[9] ZHONG R Q, YE Z H. Transcriptional regulation of lignin biosynthesis[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2009, **4**(11): 1 028-1 034.

[10] ZHOU J L, LEE C, ZHONG R Q, *et al.* MYB58 and MYB63 are transcriptional activators of the lignin biosynthetic pathway during secondary cell wall formation in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Cell*, 2009, **21**(1): 248-266.

[11] MCCARTHY R L, ZHONG R Q, YE Z H. MYB83 is a direct target of SND1 and Acts redundantly with MYB46 in the regulation of secondary cell wall biosynthesis in *Arabidopsis* [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2009, **50**(11): 1 950-1 964.

[12] GOICOECHEA M, LACOMBE E, LEGAY S, *et al.* EgMYB2, a new transcriptional activator from *Eucalyptus* xylem, regulates secondary cell wall formation and lignin biosynthesis [J]. *The Plant Journal*, 2005, **43**(4): 553-567.

[13] ZHONG R Q, LEE C, MCCARTHY R L, *et al.* Transcriptional activation of secondary wall biosynthesis by rice and maize NAC and MYB transcription factors[J]. *Plant and Cell Physiology*, 2011, **52**(10): 1 856-1 871.

[14] 王新涛,王 艳,杨 青,等. 玉米抗粗缩病种质资源的发掘和遗传多样性分析[J]. 分子植物育种, 2017, **15**(12): 5 172-5 177.
WANG X T, WANG Y, YANG Q, *et al.* Screening and ge-

netic diversity analysis of maize germplasm resources that resistant to maize rough dwarf virus[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2017, **15**(12): 5 172-5 177.

[15] NAGALAKSHMI U, WANG Z, WAERN K, *et al.* The transcriptional landscape of the yeast genome defined by RNA sequencing[J]. *Science*, 2008, **320**(5 881): 1 344-1 349.

[16] TAMAGNONE, MERIDA, PARR, *et al.* The AmMYB308 and AmMYB330 transcription factors from *Antirrhinum* regulate phenylpropanoid and lignin biosynthesis in transgenic tobacco[J]. *The Plant Cell*, 1998, **10**(2): 135-154.

[17] 黄 蓉, 熊 枫, 陈 磊, 等. 石榴木质素合成相关基因 *Pg-MYB308* 的克隆和表达分析[J]. 西北植物学报, 2017, **37**(12): 2 357-2 362.

HUANG R, XIONG F, CHEN L, *et al.* Cloning and expression analysis of lignin biosynthesis-related gene *Pg-MYB308* in pomegranate [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2017, **37**(12): 2 357-2 362.

[18] ONDA Y, MOCHIDA K. Exploring genetic diversity in plants using High-Throughput Sequencing Techniques[J]. *Current Grnomics*, 2016, **17**(4): 358-367.

[19] PRADHAN S K, PANDIT E, NAYAK D K, *et al.* Genes, pathways and transcription factors involved in seedling stage chilling stress tolerance in indica rice through RNA-Seq analysis[J]. *BMC Plant Biology*, 2019, **19**(1): 352.

[20] LORAIN E A, MCCORMICK S, ESTRADA A, *et al.* RNA-seq of *Arabidopsis* pollen uncovers novel transcription and alternative splicing[J]. *Plant Physiology*, 2013, **162**(2): 1 092-1 109.

[21] PHULE A S, BARBADIKAR K M, MAGANTIS M, *et al.* RNA-seq reveals the involvement of key genes for aerobic adaptation in rice[J]. *Scientific Reports*, 2019, **9**: 5 235.

[22] ZHAN J. Drawing in the net: 45 maize gene regulatory networks from more than 6,000 RNA-SeqSamples[J]. *Plant Cell*, 2020, **32**(5): 1 338-1 339.

[23] ZHONG R Q, MCCARTHY R L, HAGHIGHAT M, *et al.* The poplar MYB master switches bind to the SMRE site and activate the secondary wall biosynthetic program during wood formation[J]. *PLoS One*, 2013, **8**(7): e69219. DOI:10.1371/journal.pone.0069219.

[24] FORNALE S, SHI X H, CHAI C L, *et al.* ZmMYB31 directly represses maize lignin genes and redirects the phenylpropanoid metabolic flux[J]. *Plant Journal*, 2010, **64**(4): 633-644.

[25] SONBOL F M, S FORNALÉ, CAPELLADES M, *et al.* The maize ZmMYB42 represses the phenylpropanoid pathway and affects the cell wall structure, composition and degradability in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Molecular Biology*, 2009, **70**(3): 283-296.

[26] OMER S, KUMAR S, KHAN B M. Over-expression of a subgroup 4 R2R3 type MYB transcription factor gene from *Leucaena leucocephala* reduces lignin content in transgenic tobacco[J]. *Plant Cell Reports*, 2013, **32**(1): 161-171.

[27] LI M, LIN L, ZHANG Y H, *et al.* ZmMYB31, a R2R3-MYB transcription factor in maize, positively regulates the expression of CBF genes and enhances resistance to chilling and oxidative stress[J]. *Molecular Biology Reports*, 2019, **46**(4): 3 937-3 944.

[28] 王意程, 王 楠, 许海峰, 等. 红肉苹果分裂素响应基因 *MdMYB308* 的克隆与表达分析[J]. 中国农业科学, 2017, **50**(21): 4 178-4 185.

WANG Y C, WANG N, XU H F, *et al.* Molecular cloning and expression analysis of cytokinins responsive gene *Md-MYB308* in red flesh apple[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2017, **50**(21): 4 178-4 185.

[29] 辛 胡, 颜岳辉, 丁雪梅, 等. 小桐子 MYB 基因家族的鉴定及 *JcMYB308* 基因的克隆与低温表达分析[J]. 生物技术通报, 2018, **34**(1): 110-118.

XIN H, YAN Y H, DING X M, *et al.* Genome-wide identification of MYB gene family and cloning &-expression analysis of *JcMYB308* gene from *Jatropha curcas* [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2018, **34**(1): 110-118.

[30] 谈天斌, 卢晓玲, 张凯旋, 等. *TrMYB308* 基因的克隆及在苦荞毛状根中的功能分析[J]. 植物遗传资源学报, 2019, **20**(6): 1 542-1 553.

TAN T B, LU X L, ZHANG K X, *et al.* Cloning and functional analysis of transcription factor gene *TrMYB308* in Tartary buckwheat hairy roots[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2019, **20**(6): 1 542-1 553.

(编辑:宋亚珍)