

澳洲坚果 *MiMYB2* 基因克隆及结构与功能分析

王文林¹ 陈海生^{1*} 郑树芳¹ 樊松乐^{2,3} 王立丰³ 谭秋锦¹
覃振师¹ 黄锡云¹ 贺 鹏¹ 汤秀华¹ 许 鹏¹

(1. 广西南亚热带农业科学研究所, 龙州 532400; 2. 海南大学热带作物学院, 海南省热带生物资源可持续利用重点实验室, 海口 570228; 3. 农业农村部橡胶树生物学与遗传资源利用重点实验室; 省部共建国家重点实验室培育基地-海南省热带作物栽培生理学重点实验室; 农业农村部儋州热带作物科学观测实验站; 中国热带农业科学院橡胶研究所, 海口 571101)

摘 要 为研究 R2R3-MYB 转录因子家族成员在澳洲坚果生长发育和产量形成中的作用机制, 利用 PCR 技术从澳洲坚果品种“桂热一号”叶片中克隆 *MiMYB2* 基因并采用生物信息学对其结构及功能进行分析。结果表明, 克隆获得的 *MiMYB2* (NCBI 登录号: MN254976) 基因 cDNA 序列全长 1 210 bp, 开放阅读框 (ORF) 1 002 bp, 编码 333 个氨基酸。MiMYB2 编码一个无跨膜结构、无信号肽且定位于细胞核的不稳定亲水蛋白, 含两个 SANT 保守结构域, 属于 R2R3-MYB 家族。BLAST 分析发现 MiMYB2 与荷花 NnMYB3-like 氨基酸序列同源性最高。系统进化分析将 MiMYB2 与 AtMYB17、AtMYB106 和 AtMYB16 聚类为 S9 亚族。通过转录组数据分析 *MiMYB2* 基因在“桂热一号”和“695”品种澳洲坚果枝条、花和叶片中的表达模式, 表明 *MiMYB2* 在“桂热一号”品种花中的表达量最低, “695”品种花中的表达量最高。推测 MiMYB2 与澳洲坚果花生长发育密切相关。本研究为阐明 *MiMYB2* 基因在澳洲坚果生长发育和产量形成中的作用机制提供理论参考。

关键词 澳洲坚果; *MiMYB2*; 基因克隆; 生物信息学分析

中图分类号: S664.9 文献标志码: A doi: 10.7525/j.issn.1673-5102.2020.06.014

Cloning, Structure and Function Analysis of *MiMYB2* Gene from *Macadamia integrifolia*

WANG Wen-Lin¹ CHEN Hai-Sheng^{1*} ZHENG Shu-Fang¹ FAN Song-Le^{2,3} WANG Li-Feng³
TAN Qiu-Jin¹ QIN Zhen-Shi¹ HUANG Xi-Yun¹ HE Peng¹ TANG Xiu-hua¹ XU Peng¹

(1. Guangxi South Subtropical Agricultural Research Institute, Longzhou 532400; 2. Hainan Key Laboratory for Sustainable Utilization of Tropical Bioresource, College of Tropical Crop, Hainan University, Haikou 570228; 3. Key Laboratory of Biology and Genetic Resources of Rubber Tree, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, P. R. China; State Key Laboratory Incubation Base for Cultivation & Physiology of Tropical Crops; Danzhou Investigation & Experiment Station of Tropical Crops, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, P. R. China; Rubber Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101)

Abstract In order to study the mechanism of R2R3-MYB transcription factor gene family member in growth, development and yield formation in *Macadamia integrifolia*, the *MiMYB2* gene was cloned from the leaves of *M.*

基金项目: 广西科技基地和人才专项 (桂科 AD18281087); 崇左市科技计划项目 (崇科攻 2019027, 2019039); 广西农业科学院科技发展基金 (桂农科 2019ZX2015, 2019ZX17, 2020YM148); 广西农科院基本科研业务费项目 (桂农科 2020YM46, 2020YM141)

第一作者简介: 王文林 (1980—), 高级农艺师, 主要从事热带果树遗传育种方面的研究。

* 通信作者: E-mail: chenhs6179@163.com

收稿日期: 2019-12-05

Foundation item: Guangxi Science and Technology Base and Talent Special Project (Guike AD18281087); Chongzuo Science and Technology Plan Project (Chongkegong 2019027, 2019039); Guangxi Academy of Agricultural Sciences Science and Technology Development Fund (Guinongke 2019ZX2015, 2019ZX17, 2020YM148); Basic Scientific Research Fund of Guangxi Academy of Agricultural Sciences (Guinongke 2020YM46, 2020YM141)

First author introduction: introduction: WANG Wen-Lin (1980—), senior agronomist, mainly engaged in the genetic and breeding research of tropical fruit trees.

* Corresponding author: E-mail: chenhs6179@163.com

Received date: 2019-12-05

integrifolia “GUIRE1” cultivar by PCR and its structure and function were analyzed by bioinformatics method. The cloned cDNA sequence of *MiMYB2* (NCBI accession number: MN254976) gene is 1 210 bp in length, has 1002 bp open reading frame (ORF), encoding 333 amino acids. *MiMYB2*, an unstable hydrophilic protein that has no transmembrane structure, no signal peptide and localizes in the nucleus, has two SANT conserved domains belonging to the R2R3-MYB family. BLAST analysis showed that the *MiMYB2* share high amino acid sequence identity with *Lotus NnMYB3*-like protein. Phylogenetic analysis clustered *MiMYB2* and *AtMYB17*, *AtMYB106* and *AtMYB16* into S9 subfamily. The transcriptome data were used to analyze the expression patterns of *MiMYB2* gene in branch, flower and leave of *M. integrifolia* “GUIRE1” and “695” cultivar. Results indicated that *MiMYB2* has the lowest expression in the flower of “GUIRE1”, and the expression level of “695” is the highest. It is speculated that *MiMYB2* is closely related to *M. integrifolia* growth and development. This study would provide a theoretical reference for clarification the role *MiMYB2* in growth, development and yield formation mechanism of *M. integrifolia*.

Key words *Macadamia integrifolia*; *MiMYB2*; gene cloning; bioinformatics analysis

澳洲坚果 (*Macadamia integrifolia*) 是一种原产于澳大利亚的常绿乔木果树, 其果仁含有丰富的不饱和脂肪酸、蛋白质、氨基酸、可溶性糖、膳食纤维和矿物质等营养成分, 具有药用和保健等功能^[1]。澳洲坚果果仁可加工成饮品、食品和果油等^[2-3]。澳洲坚果副产品, 比如果壳可用于制备活性炭^[4]和吸附剂^[5], 油粕可用于生产动物饲料^[1]和多肽^[6]等, 经加工后可提高其经济附加值。我国澳洲坚果品种主要是经过试种驯化的国外优良品种。国外优良品种在我国试种期间, 经常面临产量及品质降低的问题^[7]。这是由于我国澳洲坚果主要种植地域分布在广西、云南、贵州和四川, 随着环境的变化, 各种病虫害如花疫病、枝枯病、炭疽病、蚜虫和蛾类等^[8], 干旱^[9]、磷^[10]、低温^[11]等不可预测的非生物胁迫和生物胁迫对澳洲坚果的生长发育、品质和产量均有影响, 制约了其产业的发展。

MYB 转录因子是一个植物转录因子家族。其中 MYB 家族成员 R2R3-MYBs 参与了多种生物过程, 包括生长发育、激素信号转导、代谢、生物胁迫和非生物胁迫等。例如, *AtMYB77* 和 *ARF7* 相互作用参与拟南芥生长素的信号转导^[12]。*AtMYB32* 参与拟南芥花粉正常的发育^[13]。杨树 *MYB165* 和 *MYB194* 属于 R2R3-MYB 家族, 启动子激活实验表明 *MYB194* 和 *MYB165* 抑制原花青素生物合成相关基因启动子激活, 过表达 *MYB165* 和 *MYB194* 转基因杨树导致叶片花青素积累减少, 根系原花青素含量降低^[14]。R2R3-MYB 家族转录因子成员 *AtMYB102* 对昆虫草食动物菜青虫有抗性^[15]。*PbrMYB21* 在耐旱性方面发挥着积极的作用^[16]。迄今, 澳洲坚果转录调控方面的研究和 MYB 家族

转录因子成员的结构与功能信息研究尚属空白。研究 R2R3-MYB 家族成员的结构与功能为阐明澳洲坚果抗逆机制和提高澳洲坚果品质和产量, 促进产业发展具有重要意义。本研究从“桂热一号”品种的叶片中克隆 *MiMYB2* 基因, 利用生物信息学对其结构和功能进行分析。澳洲坚果 R2R3-MYB 家族转录因子成员的结构和功能的深入研究, 将为阐明澳洲坚果生长发育和产量形成机制提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料“桂热一号”和“695”品种由广西南亚热带农业科学研究所澳洲坚果种质圃 (E106.79.84, N22.14.34) 提供。“桂热一号”和“695”澳洲坚果品种嫁接苗种植于广西南亚热带农业科学研究所中, 2019 年 3 月选取 2008 年嫁接种植, 树龄为 11 年两品种澳洲坚果成年树健康植株的枝条、花、叶为材料进行转录组分析。

1.2 试验方法

1.2.1 提取总 RNA 和 cDNA 的合成

按照总 RNA 提取试剂盒提供的说明书, 提取澳洲坚果“桂热一号”品种叶片的总 RNA, RNA 和反转录得到 cDNA 的浓度与纯度由 Thermo Fisher NanoDrop 2000 超微量核酸蛋白分析仪检测 (Gene Company Limited, 上海)。按照 TaKaRa 反转录试剂盒的说明书合成 cDNA, 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性。

1.2.2 克隆 *MiMYB2* 基因全长

根据澳洲坚果转录组测序序列, 利用 primer primer 6.0 软件设计引物 *MiMYB2F*, 5'-CG-

GTCCTTCTCAGTTTCTGC-3' , *MiMYB2* R, 5'-GCATCCTAACATCCCTGGAA-3' ,引物序列由公司合成。以澳洲坚果“桂热一号”品种正常叶片的cDNA 为模板,利用PCR 扩增 *MiMYB2* 的全长序列,PCR 反应体系 20.0 μL : 69 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ cDNA 模板 1.0 μL , 2 $\times$ EX-Taq PCR Master Mix 10.0 μL , 上、下游引物各 0.5 μL , ddH₂O 补足至 20.0 μL 。扩增程序: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 50 s, 72 $^{\circ}\text{C}$, 80 s, 32 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 10 min。将 PCR 产物加到 0.8% 琼脂糖凝胶中进行电泳检测, 切割目的条带后回收纯化, 目的片段连接 pMD-18T 载体, 16 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 4 h 后, 转化大肠杆菌 DH5 α 感受态细胞中, 恢复培养后均匀涂布在含羧苄抗性的培养基上, 经 PCR 检测后挑取阳性克隆测序。

1. 2. 3 *MiMYB2* 生物信息学分析

利用在线分析工具 ProtParam(<https://web.expasy.org/protparam/>)、TMPred(https://embnet.vital-it.ch/software/TMPRED_form.html)、SMART: Main page (http://smart.embl-heidelberg.de/smart/set_mode.cgi?NORMAL=1)、PHYRE、PlantmPLoc2、PSIPRED V4.0 (<http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psipred/>)、SignalP-5.0 Server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/>

SignalP/) 和 MEME (<http://meme-suite.org/tools/meme>) 等对 *MiMYB2* 进行生物信息学预测分析。利用 Clustal Omega 在线工具软件进行多序列比对。MEGAX 软件构建系统进化树(neighbor-joining, bootstrap 值设为 1 000)。用于系统进化分析的拟南芥和其他物种的蛋白序列均下载自 NCBI。

2 结果与分析

2. 1 *MiMYB2* 基因克隆

按照试剂盒操作方法提取澳洲坚果“桂热一号”品种叶片的总 RNA, 从图 1 可见 RNA 28S, 18S 和 5S 条带清晰完整且没有发生降解(见图 1A)。以 cDNA 为模板, 采用 PCR 扩增目的基因, 结果如图 1B 所示, 扩增出了与预期大小相符的特异性条带。以澳洲坚果“桂热一号”品种正常叶片的 cDNA 为模板, 利用 PCR 技术克隆得到 *MiMYB2* cDNA 基因全长, 测序验证后, 将 cDNA 序列命名为 *MiMYB2*。将 *MiMYB2* 基因序列上传至 NCBI 数据库, GenBank 登陆号为 MN254976, *MiMYB2* 基因的 cDNA 全长序列 1 210 bp, 包含 1 002 bp 的开放阅读框(ORF)如图 2 下划线标记序列, 编码 333 个氨基酸。

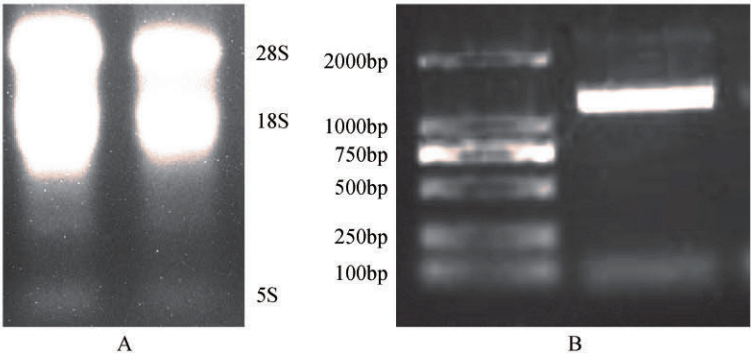


图 1 澳洲坚果桂热一号 RNA 检测及基因克隆结果

A. RNA 电泳图; B. *MiMYB2* 基因 PCR 扩增结果 (M. Marker DL2000; 1. 目的基因扩增产物)

Fig. 1 Total RNA of *M. integrifolia* (GUIRE1) and the PCR amplification products of *MiMYB2* gene
A. Total RNA of *M. integrifolia* (GUIRE1); B. The PCR amplification products of *MiMYB2* gene. M: Marker DL200; 1. The objective gene amplification products

2. 2 *MiMYB2* 蛋白质的理化性质预测

利用 ProtParam 工具在线分析 *MiMYB2* 蛋白质的理化性质: 分子式 C₁₅₅₆H₂₄₇₇N₄₄₇O₅₁₁S₁₉, 总原子数 5 010, 分子量为 36.231 61 kDa, 等电点 5.70, 带负电荷残基总数 (Asp+Glu) 为 42, 带正电残基总数 (Arg+Lys) 为 37, 不稳定系数为 67.68 (该蛋白属于不稳定蛋白), 脂肪族氨基酸指数是 67.09, 总平均亲水性为 -0.507, 推测 *MiMYB2* 蛋白是一个不稳定

的亲水蛋白。

2. 3 *MiMYB2* 蛋白质的磷酸化位点、跨膜结构及亚细胞定位预测

利用 NetPhos 3.1 在线分析工具预测 *MiMYB2* 蛋白磷酸化位点, 结果表明, *MiMYB2* 氨基酸序列有可能发生磷酸化的氨基酸位点共有 53 个, 丝氨酸磷酸化位点 44 个, 苏氨酸磷酸化位点 7 个, 酪氨酸磷酸位点 2 个 (见图 3A)。根据 *MiMYB2* 蛋白磷



图2 *MiMYB2* 基因测序结果
Fig. 2 Sequence result of *MiMYB2* gene

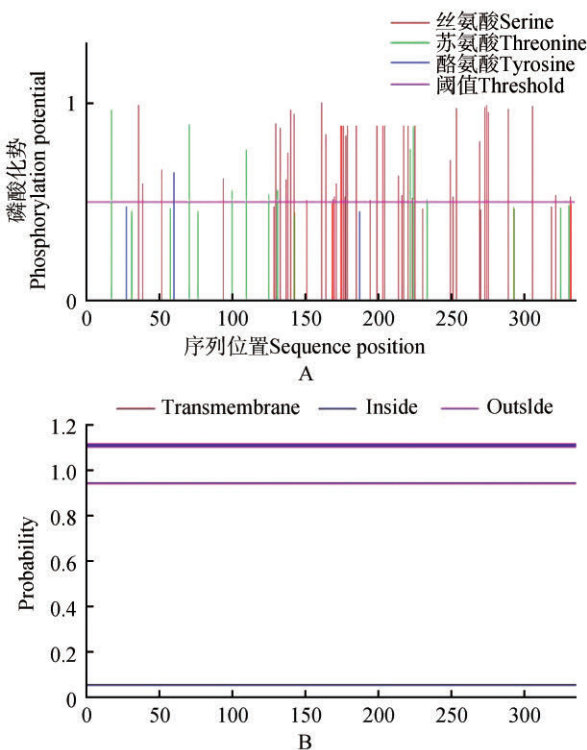


图3 *MiMYB2* 蛋白的磷酸化位点和跨膜结构预测结果
A. *MiMYB2* 蛋白的磷酸化位点预测结果; B. *MiMYB2* 跨膜结构预测
Fig. 3 Prediction of phosphorylation sites and transmembrane structures of *MiMYB2* protein

A. Prediction of phosphorylation site of *MiMYB2* protein; B. Prediction of transmembrane domain of *MiMYB2*

酸化位点预测结果,推测 *MiMYB2* 蛋白以丝氨酸为主的磷酸化修饰,调控澳洲坚果的生物功能。利用 TMPred 在线工具分析预测 *MiMYB2* 跨膜结构,结果表明 *MiMYB2* 蛋白无跨膜结构,推测 *MiMYB2* 是非跨膜蛋白。利用 SignalP-5.0 Server 分析预测 *MiMYB2* 蛋白存在信号肽的概率为 0.09% (见图 3B),推测 *MiMYB2* 是非分泌型蛋白。利用 PlantmPLoc2 预测分析 *MiMYB2* 蛋白亚细胞定位,预测结果显示其定位于细胞核中,其进一步证明 *MiMYB2* 编码一个转录因子蛋白。

2.4 *MiMYB2* 蛋白质保守结构域、二级结构、三级结构分析

利用 SMART: Main page 分析预测 *MiMYB2* 蛋白的保守结构域,发现其存在 2 个 SANT 结构域和 5 个低复杂度其位置排序分别在 13-63、66-114、128-143、168-179、214-226、235-246 和 253-284 氨基酸处, *MiMYB2* 氨基酸序列具有两个 SANT 保守结构域 (见图 4B),推测其属于 R2R3-MYB 家族。利用 SOPMA 分析 *MiMYB2* 蛋白的二级结构,结果显示 α 螺旋占 37.54%, 延长链占 10.81%, β 折叠占 6.31%, 无规卷曲占 45.35% (见图 4A)。利用 PHYRE 分析 *MiMYB2* 的三级结构如图 4C 所示。据此推测 *MiMYB2* 是一个转录因子并且属于 R2R3-MYB 家族成员。

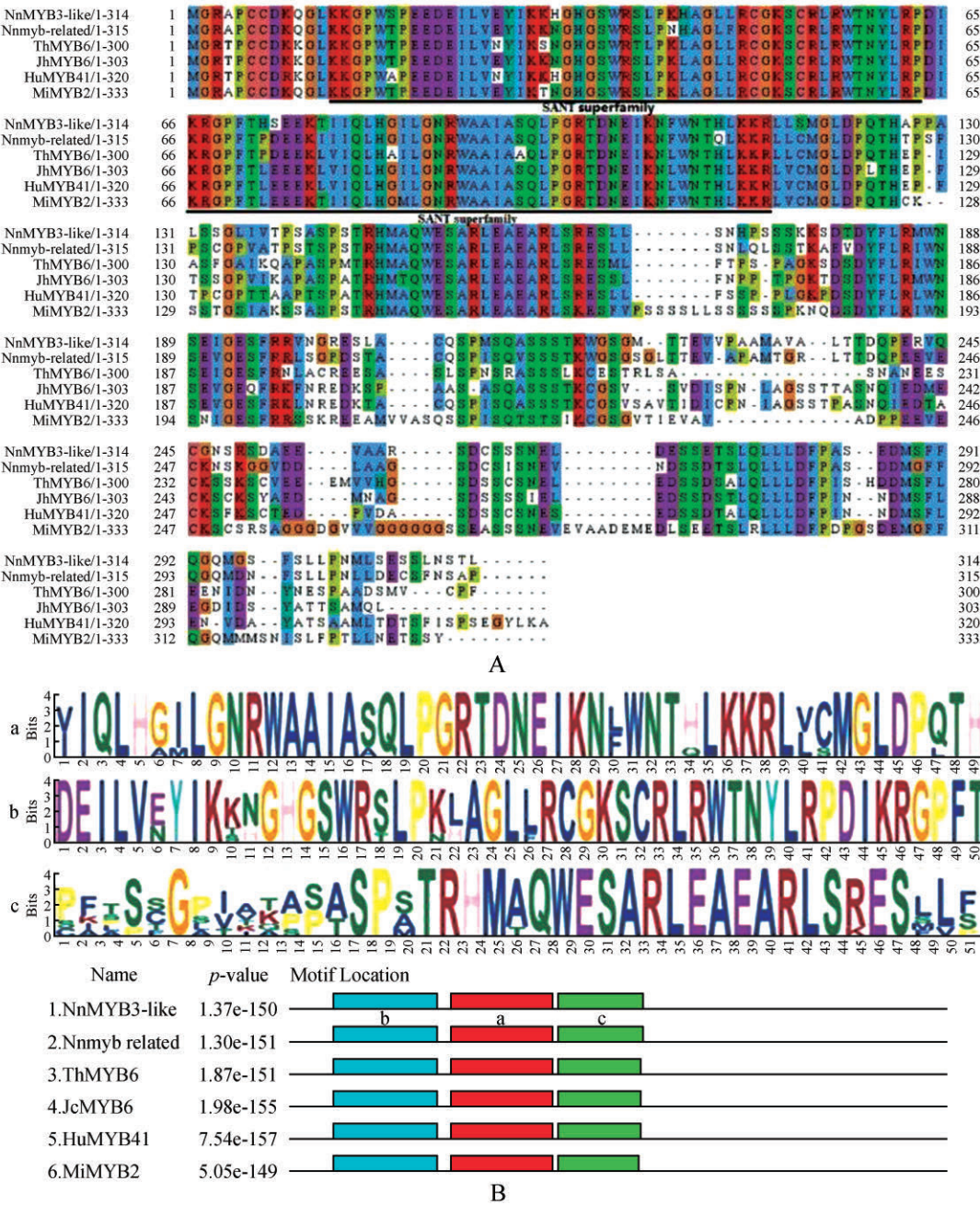


图5 MiMYB2与其他植物MYB蛋白序列分析

A. MiMYB2与其他植物MYB蛋白序列多重对比; B. MiMYB2与其他植物MYB蛋白序列MEME聚类分析

Fig. 5 Protein sequence analysis of MiMYB2 with other plant MYB proteins

A. Multiple protein sequence alignment of MiMYB2 with other plant MYB proteins; B. MEME cluster analysis of MiMYB2 with other plant MYB proteins

杨为海等分析了不同种质澳洲坚果果仁矿质元素含量,研究发现果仁中含有多种常量和微量元素,如K、Mg、Mn、Fe平均含量分别为3.87、1.85、95.91和90.58 mg·kg⁻¹[19]。澳洲坚果果油含有生育酚、角鲨烯等多种抗氧化物质[1]。澳洲坚果青皮提取的多酚,以Trolox为阳性对照评价其抗氧化性,研究发现其可用于制备天然抗氧化剂[20]。宁平等研究

表明澳洲坚果果壳可用于制备活性炭。涂行浩等利用微波辐照澳洲坚果果壳制备的活性碳产品,其吸附性能超过国家一级标椎[4,21]。杨雯等以澳洲坚果果壳等为原料,利用超声-7碱组合技术制备的吸附剂可用于处理印染废水[5]。澳洲坚果及其副产品具有较高的营养价值和经济价值。我国澳洲坚果品种主要是经过试种驯化的国外优良品

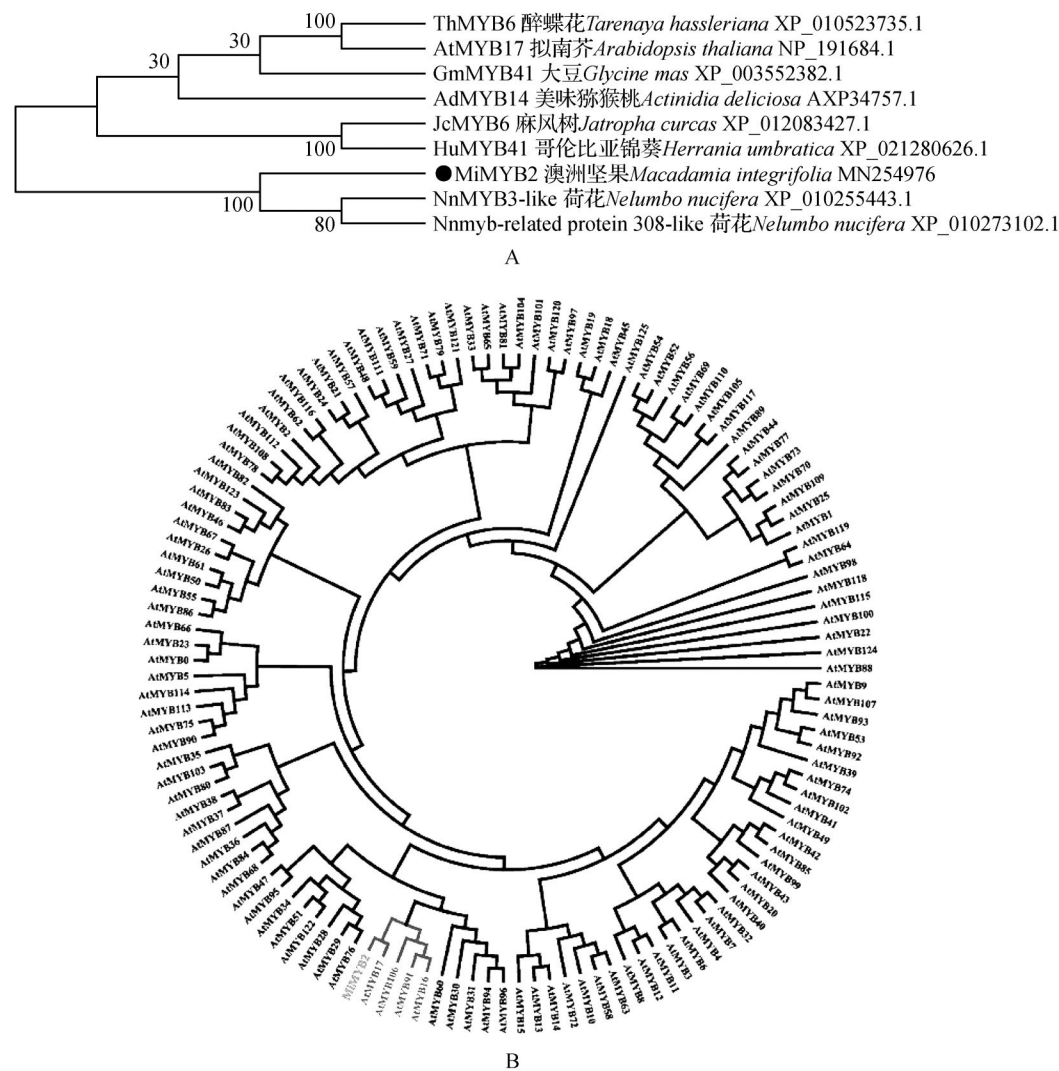


图6 澳洲坚果 *MiMYB2* 系统进化分析

A. 植物中部分MYB转录因子的系统进化树;B. 澳洲坚果 *MiMYB2* 蛋白与拟南芥中126 R2R3-MYB家族成员蛋白序列的系统树聚类分析

Fig. 6 Phylogenetic analysis of *M. integrifolia* *MiMYB2*

A. Phylogenetic tree of *MiMYB2* and other plant MYB transcription factors; B. Phylogenetic tree of *MiMYB2* from *M. integrifolia* and 126 R2R3-MYB protein members from *Arabidopsis* with indicated GenBank accession numbers

种,优良品种离开本土后其产量和品质均有下降,不可预测的生物和非生物胁迫影响着澳洲坚果的品质和产量。迄今,澳洲坚果的研究主要集中在栽培管理和杂交育种、诱变育种等,然而澳洲坚果如何调控高产优质的机制及抗逆机制尚不清楚且研究较少。分子标记育种技术结合杂交育种是选育澳洲坚果优良新品种的重要方法。宫丽丹等^[22]研究澳洲坚果耗水规律及灌溉制度,结果表明不同时期合理灌溉可提高产量和品质。谭秋锦等^[23]研究发现土壤养分因子(氮、钾、pH、有机碳)对澳洲坚果果实的品质有影响,适当提高土壤氮、钾含量合理控制施肥种类可以提高其品质。唐莹莹等^[24]

建立的澳洲坚果RAPD标记反应体系可用于分析澳洲坚果遗传多样性及鉴定种质资源。孔广红等^[25]利用Co- γ 射线辐照不同种质澳洲坚果种子,筛选出了4株性状优良的突变单株。Nock等对广泛种植的澳洲坚果品种741的基因组和转录组进行了测序,将澳洲坚果测序结果与其他5种真双子叶植物的基因家族比较,发现了13 689个含有澳洲坚果基因的簇和1 005个澳洲坚果特异簇。通过对参与氰苷生物合成的澳洲坚果基因的分析,发现了几个高表达的候选基因,为病原识别、植物防御和单萜合成中基因家族的功能研究打下了基础^[26]。Abubaker等^[27]对埃及栽培的澳洲坚果

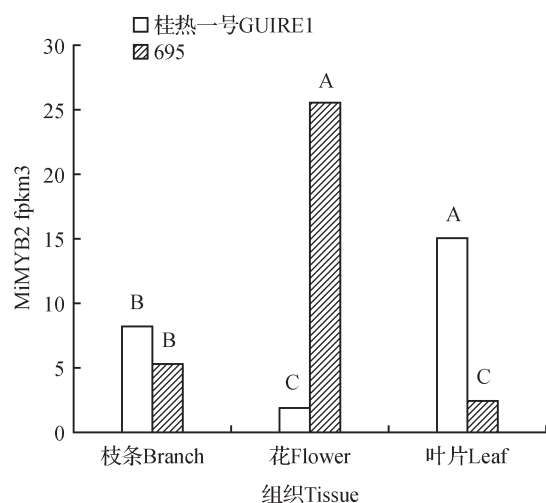


图7 *MiMYB2* 基因在不同品种和组织中的表达分析
各柱形图上用不同大写字母标识表示数据间差异极显著($P < 0.01$)

Fig. 7 *MiMYB2* expression in different cultivars and tissues
Different uppercase letters above each column means significant at $P < 0.01$ level

进行了DNA指纹图谱分析,在DNA指纹图谱研究中记录了16个不同的RAPD片段。

R2R3-MYB家族转录因子成员与植物的生长发育、生物胁迫和非生物胁迫密切相关。研究澳洲坚果R2R3-MYB家族成员的结构与功能,将为阐明澳洲坚果产量调控机制具有重要的意义。本研究通过PCR技术从澳洲坚果“桂热一号”的叶片克隆了*MiMYB2*基因,测序分析cDNA序列全长为1 210 bp,推导的氨基酸序列为1 002 bp ORF,编码333个氨基酸。生物信息学分析发现,*MiMYB2*具有两个SANT保守结构域,推测属于澳洲坚果R2R3-MYB家族;*MiMYB2*定位于细胞核是一个无跨膜结构、无信号肽的不稳定亲水蛋白。

*MiMYB2*蛋白序列提交到NCBI数据库进行BLAST比对分析,结果表明其与荷花*NnMYB3-like*(*Nelumbo nucifera*, XP_010255443.1)同源性最高(见图5A)。Deng等对荷花(*Nelumbo nucifera*)中116个R2R3 MYB基因的基因结构、表达模式等进行分析,R2R3-MYB基因可分为4组并利用荧光定量PCR分析了13个与类黄酮生物合成相关的MYB基因在荷花不同组织中的表达模式^[28]。Sun等^[29]利用酵母双杂交试验证明,*NnMYB5*与*NnbHLH1*、*NlbHLH1*和*NnTTG1*相互作用,*NnTTG1*也与*NnbHLH1*和*NlbHLH1*相互作用。在拟南芥中过表达*NnMYB5*导致拟南芥未成熟种子和花梗中

的花青素积累,*TT19*表达上调,证明*NnMYB5*是花青素合成的转录激活因子。Peng等^[30]对麻疯树MYB家族的全基因组鉴定,鉴定了128个MYB基因包括123 R2R3-MYBs,4 R1R2R3-MYBs和1 4R-MYB,选取*JcMYB2*基因进行功能研究,发现过表达*JcMYB2*植物比野生型更耐盐、耐冷胁迫。*MiMYB2*氨基酸序列与126个拟南芥R2R3-MYB家族成员的系统进化分析表明,*MiMYB2*与*AtMYB17*、*AtMYB106*、*AtMYB91*、*AtMYB16*亲缘关系较近(见图6B),*AtMYB17*、*AtMYB106*、*AtMYB16*属于拟南芥S9亚族,将*MiMYB2*聚类为S9亚族。R2R3-MYB家族转录因子成员,*AtMYB17*与早期花序发育和种子萌发相关^[31]。成熟拟南芥表皮毛的转录谱分析表明,NOECK编码MIXTA-Like转录调控因子*MYB106*与细胞生长有关^[32]。白桦中一种新的R2R3-MYB转录因子*BpMYB106*通过上调光合作用和氧化磷酸化途径相关基因表达,提高光合作用和生长速率^[33]。拟南芥R2R3-MYB家族成员MYB16和MYB106在生殖器官、营养器官和表皮毛中调控角质层形成^[34]。拟南芥S9亚族成员主要与植物的生长发育相关。通过系统进化分析将*MiMYB2*与*AtMYB17*、*AtMYB106*、*AtMYB16*聚类为S9亚族。分析“桂热一号”和“695”品种澳洲坚果转录组数据中*MiMYB2*基因在不同组织的表达模式。从图7可知,“桂热一号”中,*MiMYB2*在花中的表达量最低,然而“695”中花中的表达量最高。花属于植物的生殖器官,其形成与生长属于生殖生长,成花的迟早接的影响了果树的产量。Cao等^[35]通过荧光定量PCR检测了20个可能参与木质素生物合成的*PbMYB*基因的表达模式,推测*PbMYB25*和*PbMYB52*是梨果实发育过程中参与木质素合成调控的候选基因。苹果MYB转录因子*MdMYB3*参与花青素生物合成和花发育的转录调控,*MdMYB39L*与花粉管生长相关^[36-37]。在烟草中过表达桃子转录因子*MYB10.1*导致了*NtMYB305*的抑制,而*NtMYB30*是花发育所必需的^[38]。综上,推测*MiMYB2*参与调控澳洲坚果生长发育及产量形成机制,有待深入研究。

参 考 文 献

- [1] 刘锦宜,张翔,黄雪松. 澳洲坚果仁的化学组成与其主要部分的利用[J]. 中国食物与营养, 2018, 24(1): 45-49.
Liu J Y, Zhang X, Huang X S. Chemical composition of

- macadamia nuts and utilization of its main components [J]. Food and Nutrition in China, 2018, 24(1):45-49.
- [2] 刘建福, 黄莉. 澳洲坚果的营养价值及其开发利用 [J]. 中国食物与营养, 2005(2):25-26.
- Liu J F, Huang L. The nutritive value of macadamia nut and its exploitation and utilization [J]. Food and Nutrition in China, 2005(2):25-26.
- [3] 郭刚军, 胡小静, 彭志东, 等. 不同压榨方式澳洲坚果油品质及抗氧化活性比较 [J]. 食品科学, 2018, 39(13):125-132.
- Guo G J, Hu X J, Peng Z D, et al. Comparison of quality and antioxidant activity of press-processed macadamia (*Macadamia ternifolia* F. Muell.) oils [J]. Food Science, 2018, 39(13):125-132.
- [4] 涂行浩, 张秀梅, 刘玉革, 等. 微波辐照澳洲坚果壳制备活性炭工艺研究 [J]. 食品工业科技, 2015, 36(20):253-259, 270.
- Tu X H, Zhang X M, Liu Y G, et al. Study on the technology of activated carbon preparation of microwave irradiation of macadamia shell [J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 36(20):253-259, 270.
- [5] 杨雯, 冯骞, 操家顺, 等. 新型多羟基澳洲坚果壳吸附处理印染废水 [J]. 净水技术, 2016, 35(1):77-82.
- Yang W, Feng Q, Cao J S, et al. Treatment of dyeing wastewater by adsorption process with novel hydroxy macadamia nut shell [J]. Water Purification Technology, 2016, 35(1):77-82.
- [6] 郭刚军, 邹建云, 胡小静, 等. 液压压榨澳洲坚果粕酶解制备多肽工艺优化 [J]. 食品科学, 2016, 37(17):173-178.
- Guo G J, Zou J Y, Hu X J, et al. Optimizing the preparation of crude peptides from hydraulic macadamia nut meal by enzymatic hydrolysis [J]. Food Science, 2016, 37(17):173-178.
- [7] 谭秋锦. 中国澳洲坚果产业发展现状及问题与对策 [J]. 农业研究与应用, 2015(1):62-64.
- Tan Q J. Development status, problems and countermeasures of Australian macadamia industry [J]. Agricultural Research and Application, 2015(1):62-64.
- [8] 黄炳成, 李杨. 广西澳洲坚果几种主要虫害及病害防治措施研究 [J]. 产业与科技论坛, 2017, 16(13):55-56.
- Huang B C, Li Y. Optimizing the study on several main pests and disease control measures of macadamia in Guangxi [J]. Industrial & Science Tribune, 2017, 16(13):55-56.
- [9] 宫丽丹, 倪书邦, 贺熙勇, 等. 干旱胁迫下保水剂对澳洲坚果生长及水分特征参数的影响 [J]. 热带农业科技, 2017, 40(1):17-19.
- Gong L D, Ni S B, He X Y, et al. Effects of hydrogel on macadamia growth and its moisture characteristic parameters under drought stress [J]. Tropical Agricultural Science & Technology, 2017, 40(1):17-19.
- [10] 刘建福. 磷胁迫对澳洲坚果幼苗叶片光合作用的影响 [J]. 西南师范大学学报: 自然科学版, 2007, 32(2):45-48.
- Liu J F. Influence of phosphorus stress on photosynthetic characteristics of macadamia seedlings [J]. Journal of Southwest China Normal University: Natural Science, 2007, 32(2):45-48.
- [11] 岳海, 李国华, 李国伟, 等. 澳洲坚果不同品种耐寒特性的研究 [J]. 园艺学报, 2010, 37(1):31-38.
- Yue H, Li G H, Li G W, et al. Studies on cold resistance of different macadamia cultivars [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2010, 37(1):31-38.
- [12] Shin R, Burch A Y, Huppert K A, et al. The *Arabidopsis* transcription factor MYB77 modulates auxin signal transduction [J]. The Plant Cell, 2007, 19(8):2440-2453.
- [13] Preston J, Wheeler J, Heazlewood J, et al. AtMYB32 is required for normal pollen development in *Arabidopsis thaliana* [J]. The Plant Journal, 2004, 40(6):979-995.
- [14] Ma D W, Reichelt M, Yoshida K, et al. Two R2R3-MYB proteins are broad repressors of flavonoid and phenylpropanoid metabolism in poplar [J]. The Plant Journal, 2018, 96(5):949-965.
- [15] De Vos M, Denekamp M, Dicke M, et al. The *Arabidopsis thaliana* transcription factor AtMYB102 functions in defense against the insect *Herbivore pieris rapae* [J]. Plant Signaling & Behavior, 2006, 1(6):305-311.
- [16] Li K Q, Xing C H, Yao Z H, et al. *PbrMYB21*, a novel MYB Protein of *Pyrus betulaeifolia*, functions in drought tolerance and modulates polyamine levels by regulating arginine decarboxylase gene [J]. Plant Biotechnology Journal, 2017, 15(9):1186-1203.
- [17] Dubos C, Stracke R, Grotewold E, et al. MYB transcription factors in *Arabidopsis* [J]. Trends in Plant Science, 2010, 15(10):573-581.
- [18] 赵大宣, 赵静, 秦斌华, 等. GC-MS 分析澳洲坚果脂肪酸组分 [J]. 农业研究与应用, 2013, (1):20-22.
- Zhao D X, Zhao J, Qin B H, et al. Analysis of fatty acids in macadamia nut by GC-MS [J]. Agricultural Research and Application, 2013, (1):20-22.
- [19] 杨为海, 张明楷, 邹明宏, 等. 澳洲坚果不同种质果仁矿质元素含量分析 [J]. 中国粮油学报, 2016, 31(12):158-162.
- Yang W H, Zhang M K, Zou M H, et al. Analysis of mineral elements contents in various germplasms kernel of macadamia [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2016, 31(12):158-162.

- [20] 张明, 帅希祥, 杜丽清, 等. 澳洲坚果青皮多酚提取工艺优化及其抗氧化活性[J]. 食品工业科技, 2017, 38(22): 195-199.
- Zhang M, Shuai X X, Du L Q, *et al.* Optimization of extraction and antioxidant activity of polyphenols from macadamia green peel[J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(22): 195-199.
- [21] 宁平, 杨月红, 彭金辉, 等. 澳洲坚果壳活性炭制备的热解特性研究[J]. 林产化学与工业, 2006, 26(4): 61-64.
- Ning P, Yang Y H, Peng J H, *et al.* Study on pyrolysis characteristics of macadamia shell during preparation of activated carbon[J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2006, 26(4): 61-64.
- [22] 宫丽丹, 倪书邦, 贺熙勇, 等. 澳洲坚果耗水规律及灌溉制度研究[J]. 中国农学通报, 2015, 31(36): 99-102.
- Gong L D, Ni S B, He X Y, *et al.* Study on water consumption law and irrigation system of *Macadamia*[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2015, 31(36): 99-102.
- [23] 谭秋锦, 王文林, 何铤扬, 等. 土壤养分对澳洲坚果果实品质的影响[J]. 经济林研究, 2017, 35(3): 219-223.
- Tan Q J, Wang W L, He X Y, *et al.* Effects of soil nutrients on nut qualities in *Macadamia integrifolia*[J]. Non-wood Forest Research, 2017, 35(3): 219-223.
- [24] 唐莹莹, 杨祥燕, 蔡元保, 等. 澳洲坚果 RAPD 标记反应体系的建立及应用[J]. 中国南方果树, 2018, 47(3): 46-49.
- Tang Y Y, Yang X Y, Cai Y B, *et al.* Establishment and application of RAPD labeling reaction system for *Macadamia integrifolia*[J]. South China Fruits, 2018, 47(3): 46-49.
- [25] 孔广红, 倪书邦, 贺熙勇, 等. ^{60}Co - γ 射线辐照澳洲坚果种子后的苗期辐射效应[J]. 核农学报, 2018, 32(3): 417-423.
- Kong G H, Ni S B, He X Y, *et al.* The radiation effects of ^{60}Co - γ rays irradiation on macadamia seeds at seedlings stage[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2018, 32(3): 417-423.
- [26] Nock C J, Baten A, Barkla B J, *et al.* Genome and transcriptome sequencing characterises the gene space of *Macadamia integrifolia* (Proteaceae)[J]. BMC Genomics, 2016, 17(1): 937.
- [27] Abubaker M, SelHawary S, Mahrous E A, *et al.* Botanical study and DNA fingerprinting of *Macadamia integrifolia* maiden and betche cultivated in Egypt[J]. Journal of Pharmacy Research, 2018, 12(3): 298-304.
- [28] Deng J, Li M, Huang L Y, *et al.* Genome-wide analysis of the *R2R3 MYB* subfamily genes in lotus (*Nelumbo nucifera*)[J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2016, 34(5): 1016-1026.
- [29] Sun S S, Gugger P F, Wang Q F, *et al.* Identification of a *R2R3-MYB* gene regulating anthocyanin biosynthesis and relationships between its variation and flower color difference in lotus (*Nelumbo Adans.*)[J]. PeerJ, 2016, 4:e2369.
- [30] Peng X J, Liu H, Wang D, *et al.* Genome-wide identification of the *Jatropha curcas* MYB family and functional analysis of the abiotic stress responsive gene *JcMYB2*[J]. BMC Genomics, 2016, 17(1): 251.
- [31] Zhang Y F, Cao G Y, Qu L J, *et al.* Characterization of *Arabidopsis MYB* transcription factor gene *AtMYB17* and its possible regulation by LEAFY and AGL15[J]. Journal of Genetics and Genomics, 2009, 36(2): 99-107.
- [32] Jakoby M J, Falkenhan D, Mader M T, *et al.* Transcriptional profiling of mature *Arabidopsis* trichomes reveals that *NOECK* encodes the MIXTA-like transcriptional regulator MYB106[J]. Plant Physiology, 2008, 148(3): 1583-1602.
- [33] Zhou C G, Li C H. A novel R2R3-MYB transcription factor BpMYB106 of birch (*Betula platyphylla*) confers increased photosynthesis and growth rate through up-regulating photosynthetic gene expression[J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 315.
- [34] Oshima Y, Mitsuda N. The MIXTA-like transcription factor MYB16 is a major regulator of cuticle formation in vegetative organs[J]. Plant Signaling & Behavior, 2013, 8(11): e26826.
- [35] Cao Y P, Han Y H, Li D H, *et al.* MYB transcription factors in Chinese pear (*Pyrus bretschneideri* Rehd.): genome-wide identification, classification, and expression profiling during fruit development[J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 577.
- [36] Vimolmangkang S, Han Y P, Wei G C, *et al.* An apple MYB transcription factor, *MdMYB3*, is involved in regulation of anthocyanin biosynthesis and flower development[J]. BMC Plant Biology, 2013, 13(1): 176.
- [37] Meng D, He M Y, Bai Y, *et al.* Decreased sorbitol synthesis leads to abnormal stamen development and reduced pollen tube growth via an MYB transcription factor, *MdMYB39L*, in apple (*Malus domestica*)[J]. New Phytologist, 2018, 217(2): 641-656.
- [38] Rahim M A, Resentini F, Dalla Vecchia F, *et al.* Effects on plant growth and reproduction of a peach R2R3-MYB transcription factor overexpressed in tobacco[J]. Frontiers in Plant Science, 2019, 10: 1143.