

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2009.01181

小麦盐胁迫相关基因 *TaMYB32* 的克隆与分析

张立超 赵光耀 贾继增 孔秀英*

中国农业科学院作物科学研究所 / 农作物基因资源与基因改良重大科学工程 / 农业部种质资源与生物技术重点开放实验室, 北京 100081

摘要: 在对小麦全长 cDNA 克隆进行大规模测序及转录因子功能研究中, 筛选到一个盐胁迫相关的 MYB 转录因子基因, 将其命名为 *TaMYB32*。*TaMYB32* 的全长 cDNA 序列为 1 250 bp, 开放阅读框为 732 bp, 编码一个具有 244 个氨基酸的 R2R3-MYB 转录因子。根据该基因的 cDNA 序列设计引物, 分别在小麦二倍体祖先种乌拉尔图小麦 UR206、拟斯卑尔脱山羊草 Y2006 和粗山羊草 Y2282 以及六倍体普通小麦中国春和茶淀红中克隆了 *TaMYB32* 的基因组和 cDNA 序列。序列分析表明 *TaMYB32* 在小麦二倍体祖先种中存在 2 种序列, 在六倍体小麦中存在 4 种序列, 其中 1 种序列在进化上非常保守, 在二倍体和六倍体中完全相同。对 *TaMYB32* 的基因组和 cDNA 序列比较分析表明它是一个没有内含子的基因。电子定位发现 *TaMYB32* 在小麦第六同源群上, 每个基因组中有 2 个拷贝, 这与测序结果相吻合。同源序列分析发现, *TaMYB32* 与来自水稻和玉米中的 MYB 蛋白的相似性分别为 72.4% 和 73.7%。组织表达特性分析表明该基因在小麦根、茎、叶、雌蕊和花药中均有较强的表达。半定量与实时定量 RT-PCR 结果表明 *TaMYB32* 是一个受盐胁迫诱导表达的基因。

关键词: 小麦; MYB 转录因子; 耐盐相关基因

Cloning and Analysis of a Salt Stress Related Gene *TaMYB32* in Wheat

ZHANG Li-Chao, ZHAO Guang-Yao, JIA Ji-Zeng, and KONG Xiu-Ying*

Key Laboratory of Crop Germplasm and Biotechnology, Ministry of Agriculture / Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement / Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China

Abstract: Transcriptional factors play an important role in plant adapt ability to abiotic stress at molecular level. MYB transcriptional factor family is a multifunctional gene family that have been found some of them take part in response to plant abiotic stress. In the large-scale sequencing of the wheat full length cDNAs cloned in our laboratory and functional analysing of transcriptional factors, a salt stress related gene was screened out and named *TaMYB32*. *TaMYB32* is 1 250 bp in full length with a 732 bp ORF, encoding a R2R3-MYB transcriptional factor with 244 amino acids. The sequences of *TaMYB32* were cloned from the diploid ancestors of *Triticum urartu* UR206, *Aegilops speltoides* Y2006 and *Aegilops tauschii* Y2282 and hexaploid wheat of Chinese Spring and Chadianhong using the primer designed based on the cDNA sequence of *TaMYB32*. Sequence analysis indicated that two types of sequences existed in the diploid ancestors and four in hexaploid wheat. One of the sequences was the same in the diploid and hexaploid wheats which implied that *TaMYB32* was very conservative during the evolution of wheat. After comparing the genomic sequences with their cDNA sequences of *TaMYB32*, we found that it was a non-intron gene. *TaMYB32* was mapped onto wheat homoeologous group 6 using electronic mapping strategy; there were two copies in each genome of hexaploid wheat, which was consistent with the sequencing results. Homologous analysis found that *TaMYB32* had a similarity with R2R3-MYB proteins from rice and maize as high as 72.4% and 73.7%, respectively. Tissue specific analysis indicated that *TaMYB32* expressed in root, stem, leaf, pistil and anther. Semi-quantitative and real-time RT-PCR revealed that the expression of *TaMYB32* was induced by salt stress.

Keywords: Wheat; MYB transcriptional factor; Salt-tolerance related gene

本研究由引进国际先进农业科学技术计划(948 计划)项目(2005-Z47)资助。

* 通讯作者(Corresponding author): 孔秀英, E-mail: xykong@mail.caas.net.cn

第一作者联系方式: E-mail: lichao_zh@yahoo.com.cn

Received(收稿日期): 2009-02-06; Accepted(接受日期): 2009-03-14.

植物的逆境应答是一个很复杂的生物学过程,当植物受到外界环境胁迫后,会引发体内一系列的生理生化反应,并最终通过信号传导过程诱导或者抑制某些基因的表达,以避免或减少逆境对自身的危害^[1-2]。近年来,通过基因芯片等分子生物学技术,筛选出一批受逆境诱导表达的基因^[3],按照作用方式的不同可将其分为两类,即在逆境胁迫中起调控作用的调控蛋白和直接发挥作用的功能蛋白^[4]。相对而言,调控蛋白常常位于某条信号通路或基因调控网络的上游,作为感知外界环境信号的早期因子,其功能可以通过一系列的信号转导过程得到级联放大,因此成为植物抗逆机制研究的热点领域。

转录因子是一类重要的调控蛋白,其通过与靶基因的启动子区结合在转录水平上实现对目标基因的调控。按照DNA结合域的不同,转录因子被分为不同的家族,其中,MYB家族转录因子被认为是植物中最大的一类^[5-6],它在结构上具有由1到3个MYB重复单元组成的MYB结构域,每个MYB重复通常包含50~53个氨基酸,在每个重复的内部又会形成螺旋-转角-螺旋的结构,参与对靶序列的识别。根据MYB结构域所含MYB重复的数量,MYB家族转录因子被分为3种类型,即包含3个MYB重复的3R-MYB、包含2个MYB重复的R2R3-MYB和MYB-related类型,其中,R2R3-MYB是植物中存在最广泛的类型^[7-10]。研究表明,MYB家族转录因子在植物抗逆性方面具有重要作用。*AtMYB2*、*AtMYB41*、*AtMYB44*和*AtMYB102*是在拟南芥中克隆的4个与抗逆相关的MYB转录因子。*AtMYB2*是一个受干旱诱导表达的基因,当植物处于缺水的生长条件时,它会作为转录激活因子调节一些受乙烯诱导表达基因的转录,以此来响应生长环境的变化^[11-12]。*AtMYB41*在正常的生长条件下是不表达的,但经干旱、ABA及盐胁迫诱导后,则高水平表达,它可能通过参与调控表皮合成及细胞增殖来响应各种逆境胁迫^[13]。*AtMYB44*通过依赖于ABA的信号传导网络,参与植物的非生物胁迫响应过程,过表达*AtMYB44*可以促使植株气孔关闭,从而增加对非生物胁迫的抗性^[14]。*AtMYB102*是一个参与植物渗透胁迫响应的基因,其表达受渗透胁迫及ABA的诱导^[15]。水稻*Osmyb4*基因在拟南芥中过量表达后能增强转基因植株对低温和冻害的抗性^[16];水稻*OsMYB3R-2*基因在拟南芥中过量表达后能增强转基因植株对冻害、高盐和干旱的抗性^[17]。*TaMYB1*是在

小麦中克隆的一个R2R3-MYB类型的转录因子,该基因的表达与根中氧的浓度相关,同时又受盐、PEG和ABA的诱导,但目前还不清楚其具体的功能^[18]。

为了对小麦的转录因子基因进行深入研究,我们在本实验室小麦全长cDNA大规模克隆测序的基础上,对其中的转录因子基因进行了分类,根据每个转录因子基因的cDNA序列设计特异引物,然后利用半定量RT-PCR的方法进行耐盐基因筛选,获得一个表达受盐胁迫诱导的R2R3-MYB转录因子基因,根据该基因在所筛选到的MYB家族转录因子基因中的排列序号,将其命名为*TaMYB32*。本研究对该基因在小麦二倍体祖先种和六倍体普通小麦中的序列、拷贝数、染色体定位、组织表达特性及其在盐胁迫下的表达模式进行了探讨。

1 材料与方法

1.1 材料

用于转录因子筛选的小麦全长cDNA文库由本实验室构建(未发表资料);基因序列克隆所用的小麦二倍体祖先种为A基因组的乌拉尔图小麦(*Triticum urartu*) UR206、S基因组的拟斯卑尔脱山羊草(*Aegilops speltoides*) Y2006和D基因组的粗山羊草(*Ae. tauschii*) Y2282以及六倍体普通小麦(*Triticum aestivum*) ABD基因组的中國春(盐敏感品种)和茶淀红(耐盐品种),其中,中國春和茶淀红用于盐胁迫处理。小麦幼苗在培养室中水培4d后转入Hoagland培养液,10d后用250 mmol L⁻¹ NaCl溶液进行处理,分别在0、1、3、7、12和24h时取根为供试材料。组织特异性表达分析所用的各个组织材料取自大田种植的中國春。

1.2 *TaMYB32* 基因全长序列的克隆

以T3和T7引物对筛选到的*TaMYB32*全长cDNA克隆进行双向测序,通过DNASTAR软件对序列进行拼接组装,得到一致序列后提交FGENESH(<http://www.softberry.com/>)进行ORF的预测。根据*TaMYB32*的cDNA序列设计引物(MYB32FLC-F: 5'-AGCATCCGACTCCCTCC-3', MYB32FLC-R: 5'-GCCCATCATTTGTCCC-3'),在二倍体和六倍体材料的基因组DNA和cDNA中扩增*TaMYB32*基因序列,对PCR产物进行挖胶回收并克隆到pEASY-T1载体(TransGen)上,然后转化大肠杆菌TOP10感受态细胞。为了克隆所有类型的序列,我们在六倍体材料的重组质粒中随机挑取96个克隆进行测序,在二倍

体材料的重组质粒中随机挑取 24 个克隆进行测序。

1.3 *TaMYB32* 基因的染色体定位

通过搜索 GrainGenes (<http://wheat.pw.usda.gov/>) 中已经定位的 EST 序列, 对 *TaMYB32* 进行电子定位及拷贝数分析。

1.4 *TaMYB32* 序列分析

利用 DNASTAR 软件比对分析基因组与 cDNA 序列; 保守结构域分析及同源性分析是将 *TaMYB32* 的氨基酸序列提交 Sanger Institute (<http://pfam.sanger.ac.uk/>) 进行 pfam 预测, 以确定该蛋白所具有的功能结构域。以 *TaMYB32* 作为母序列, 在 GenBank 中搜索其他物种中与该基因同源的序列, 并通过 MEGA 软件进行进化分析。

1.5 半定量和实时定量 RT-PCR 分析

利用 TRIZOL 法分别提取中国春小麦根、茎、叶、雌蕊、花药组织及盐胁迫处理的茶淀红和中国春材料根的总 RNA。采用 SuperScript II 反转录酶 (Invitrogen) 合成 cDNA 第一条链。采用 20 μ L 半定量 PCR 体系, 取 1 μ L cDNA 做模板, 所用引物为 MYB32F: 5'-TGAGATGGACTTCTGGGTCAC-3', MYB32R: 5'-GGTATTATCAGGCTTTCAGTCC-3', 扩增条件为 94 $^{\circ}$ C 5 min; 95 $^{\circ}$ C 30 s, 55 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 40 s, 32 个循环; 72 $^{\circ}$ C 5 min。半定量 RT-PCR 试验设 3 次重复。以小麦 *Tubulin* 基因作为内参, 反应程序运行 25 个循环, 其他条件同上。采用 25 μ L 实时定量 RT-PCR 体系, 反应条件为 95 $^{\circ}$ C 2 min; 95 $^{\circ}$ C 20 s, 57 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 31 s, 40 个循环, 以小麦 *Tubulin* 基因作为内参, 反应在 ABI Prism7000 荧光定量 PCR 仪上运行, 3 次重复。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行定量分析。

2 结果与分析

2.1 *TaMYB32* 基因的克隆和染色体定位

在本实验室构建的小麦全长 cDNA 文库中筛选到的 *TaMYB32* 克隆全长为 1 250 bp, 开放阅读框为 732 bp, 编码一个具有 244 个氨基酸的 R2R3-MYB 转录因子, MYB 结构域位于其 C 末端第 12 至 115 位氨基酸。根据 cDNA 序列设计引物, 分别在小麦二倍体祖先种 A 基因组的乌拉尔图小麦 UR206、S 基因组的拟斯卑尔脱山羊草 Y2006 和 D 基因组的粗山羊草 Y2282 及六倍体普通小麦中国春和茶淀红中扩增 *TaMYB32* 的基因组和 cDNA 序列(图 1), 对扩增片段的克隆测序结果表明, 3 个小麦二倍体祖先种的基因组 DNA 和 cDNA 中均存在 2 种类型的序列, 而在六倍体普通小麦中均有 4 种序列, 这 4 种序列在中国春和茶淀红之间是完全一致的。对这些序列进一步分析发现, 在 3 个小麦二倍体祖先种和六倍体小麦中有 1 条序列是完全相同的, 而六倍体普通小麦中的另外 3 种类型的序列分别与 3 个小麦二倍体祖先种中另外 1 种类型的序列对应(图 2 和图 3)。利用 DNASTAR 软件对 *TaMYB32* 的基因组与 cDNA 序列进行比对分析时发现两者序列完全一致, 与图 1 的结果相吻合, 表明该转录因子是一个没有内含子的基因。对 GrainGenes 上已经定位的 7 104 条 EST 序列进行检索, 得到一条与 *TaMYB32* 基因序列完全相同的 EST 序列(BM134356), 该 EST 被定位在小麦的第六同源群的染色体上, 每条染色体各有两个位点, 这一结果与本试验获得的 *TaMYB32* 序列情况一致, 即 *TaMYB32* 在小麦二倍体祖先种和六倍体小麦

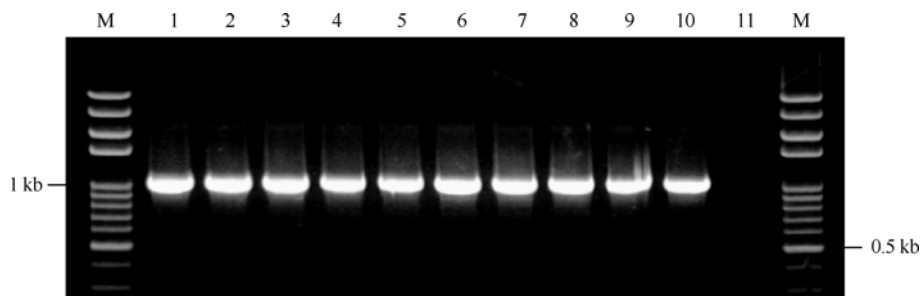


图 1 *TaMYB32* 基因在小麦二倍体祖先种和六倍体小麦中的 PCR 扩增

Fig. 1 PCR amplification of *TaMYB32* sequences in the diploid ancestors and hexaploid wheat

M: 100 bp plus DNA marker; 1: 乌拉尔图小麦 DNA; 2: 乌拉尔图小麦 cDNA; 3: 拟斯卑尔脱山羊草 DNA; 4: 拟斯卑尔脱山羊草 cDNA; 5: 粗山羊草 DNA; 6: 粗山羊草 cDNA; 7: 中国春 DNA; 8: 中国春 cDNA; 9: 茶淀红 DNA; 10: 茶淀红 cDNA; 11: 水。
M: 100 bp Plus DNA marker; 1: DNA of UR206; 2: cDNA of UR206; 3: DNA of Y2006; 4: cDNA of Y2006; 5: DNA of Y2282; 6: cDNA of Y2282; 7: DNA of Chinese Spring; 8: cDNA of Chinese Spring; 9: DNA of Chadianhong; 10: cDNA of Chadianhong; 11: H₂O.

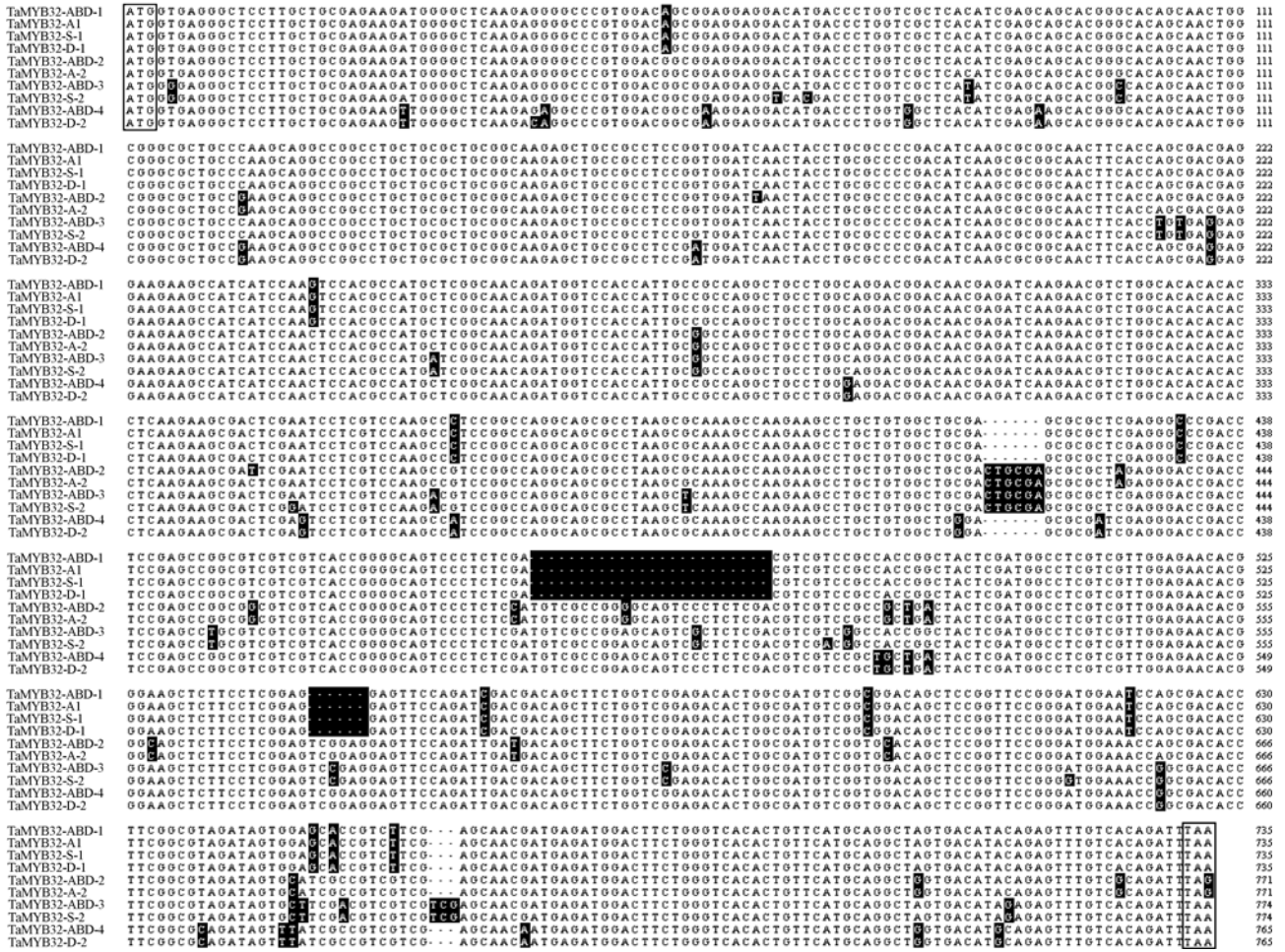


图 2 小麦二倍体祖先种和六倍体小麦 *TaMYB32* 序列的比对分析

Fig. 2 Alignment analysis of *TaMYB32* sequences in the diploid ancestors and hexaploid wheat
起始密码子(ATG)和终止密码子(TAA)用矩形框标出, 黑色背景标识的为差异位点。

Start code (ATG) and stop code (TAA) were marked with rectangles; black background indicated the sites with different nucleotide sequences.

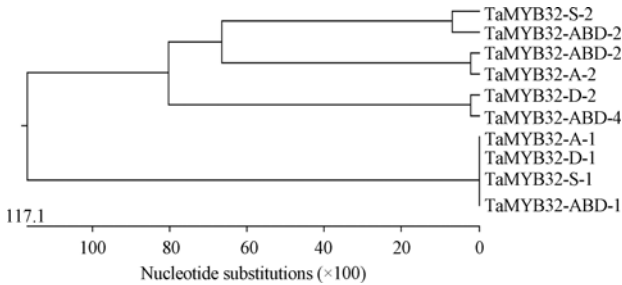


图 3 小麦二倍体祖先种和六倍体小麦 *TaMYB32* 基因序列的聚类分析
Fig. 3 Dendrogram of nucleotide sequences of *TaMYB32* in diploid ancestors and hexaploid wheat

的 3 个基因组中各有 2 个拷贝。通过比较 *TaMYB32* 的基因组序列与 cDNA 序列, 表明该基因的两个拷贝都是表达的。

2.2 *TaMYB32* 基因的结构特性和同源性分析

对 *TaMYB32* 保守结构域分析表明, 除了位于

其 C 末端的 MYB 结构域外没有发现其他的保守结构域。利用 BlastP 程序从 GenBank 中搜索到 20 个与 *TaMYB32* 有同源关系的来源于不同物种的 R2R3-MYB 蛋白, 对这些序列聚类结果显示, *TaMYB32* 与水稻和玉米中的一个 R2R3-MYB 转录因子有较高的相似性, 分别为 72.4%和 73.7% (图 4-A), 然而关于这些蛋白的功能尚无报道。对这些基因的氨基酸序列的进一步分析发现, 它们的 MYB 结构域在序列上非常保守, 其中有 44 个氨基酸在 21 个不同的 MYB 蛋白中是完全相同的, 这表明 MYB 结构域在进化过程中是非常保守的(图 4-B)。

2.3 *TaMYB32* 基因的表达特性

半定量 RT-PCR 分析结果表明, *TaMYB32* 在根、茎、叶、雌蕊和花药组织中均表达, 且表达量没有明显差别(图 5)。半定量和实时定量 RT-PCR 结果表

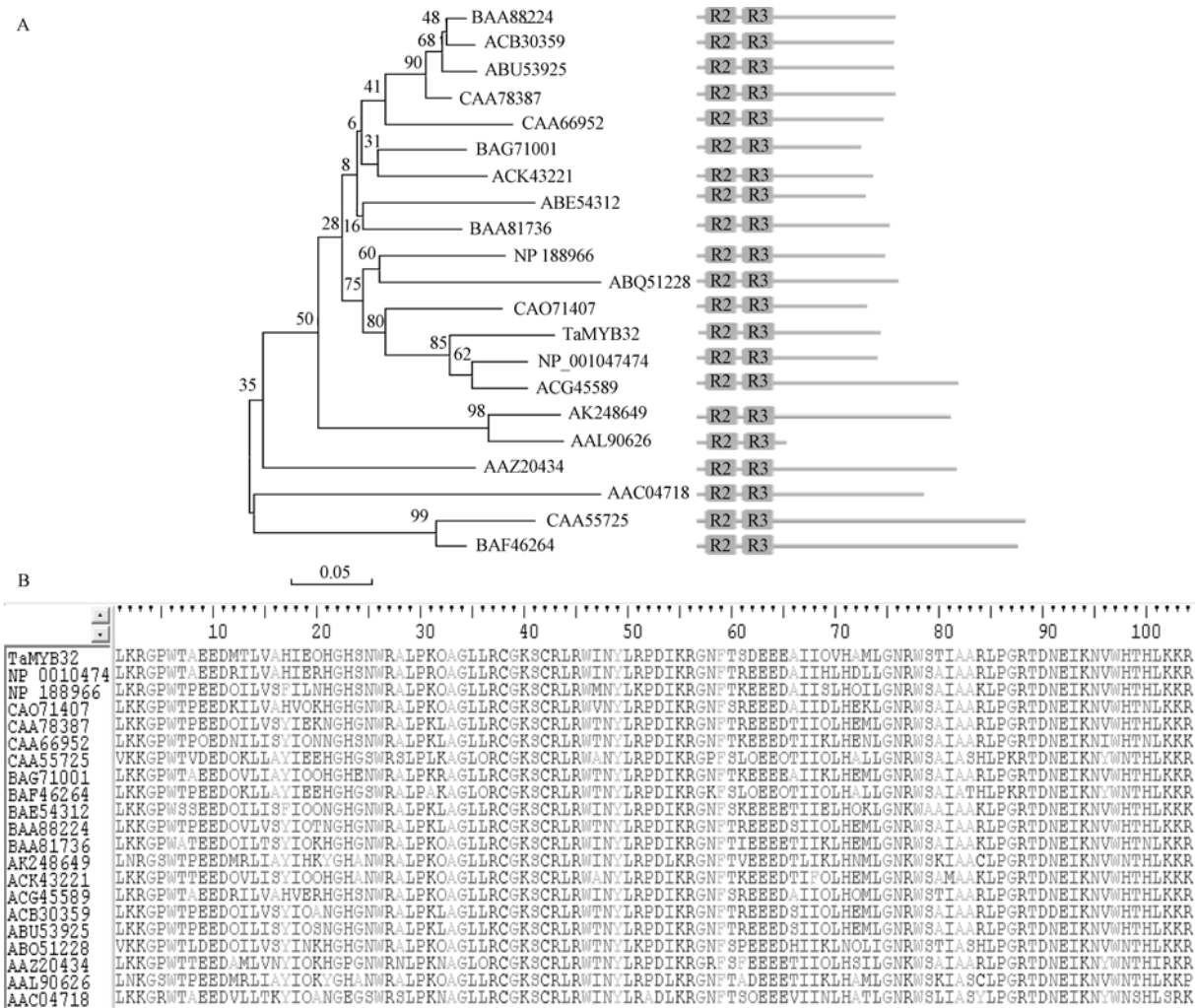


图 4 *TaMYB32* 与其他物种 MYB 蛋白的同源性分析

Fig. 4 Homology analysis of *TaMYB32* with the MYB proteins from other species

A: *TaMYB32* 与其他物种中 MYB 蛋白之间的系统进化树; B: 不同物种间 MYB 结构域的保守性分析。NP_0010474: 水稻; NP_188966: 拟南芥; CAO071407: 葡萄; CAA78387: 矮牵牛花; CAA66952: 番茄; BAG71001: 芭蕉; BAF46264: 啤酒花; BAE54312: 胡萝卜; BAA88224: 烟草; BAA81736: 栽培大豆; AK248649: 大麦; ACK43221: 人参; ACG45589: 玉米; ACB30359: 辣椒; ABU53925: 洋金花; ABQ51228: 白云杉; AAZ20434: 苹果; AAL90626: 甜高粱; AAC04718: 棉花。

A: rooted phylogenetic tree of amino acid sequences from wheat *TaMYB32* with the MYB proteins from other species; B: conservation analysis of MYB domains among different species. NP_0010474: *Oryza sativa*; NP_188966: *Arabidopsis thaliana*; CAO071407: *Vitis vinifera*; CAA78387: *Petunia hybrida*; CAA66952: *Solanum lycopersicum*; CAA55725: *Antirrhinum majus*; BAG71001: *Musa balbisiana*; BAF46264: *Humulus lupulus*; BAE54312: *Daucus carota*; BAA88224: *Nicotiana tabacum*; BAA81736: *Glycine max*; AK248649: *Hordeum vulgare*; ACK43221: *Panax ginseng*; ACG45589: *Zea mays*; ACB30359: *Capsicum annuum*; ABU53925: *Datura metel*; ABQ51228: *Picea glauca*; AAZ20434: *Malus domestica*; AAL90626: *Sorghum bicolor*; AAC04718: *Gossypium hirsutum*.

明, 在盐胁迫下, *TaMYB32* 基因在盐敏感品种中国春小麦和耐盐品种茶淀红中表现出了不同的表达模式(图 6 和图 7)。在茶淀红中, *TaMYB32* 的表达在很短的时间内就受到诱导, 在 1 h 时表达量达到最高, 为处理前的 6 倍以上, 到 24 h 表达量降低到处理前的表达量之下(图 7 和图 8); 而在中国春中, 其表达虽然也受到盐胁迫的诱导, 但是受诱导时间较茶淀红要晚且受诱导的程度也要弱很多(图 6)。

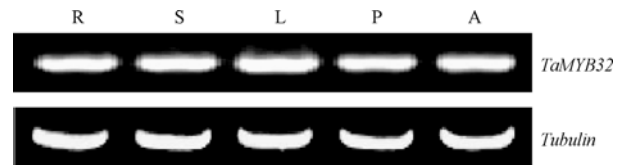


图 5 *TaMYB32* 在中国春不同组织中的半定量 RT-PCR 分析
Fig. 5 Tissue-specific expression analysis pattern of *TaMYB32* by semiquantitative RT-PCR in Chinese Spring

R: 根; S: 茎; L: 叶; P: 雌蕊; A: 花药。
R: root; S: stem; L: leaf; P: pistil; A: anther.

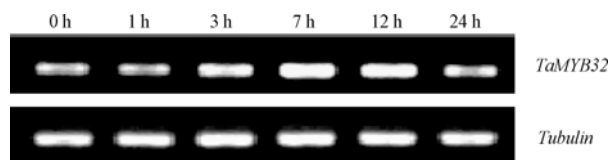


图 6 中国春中 *TaMYB32* 在盐胁迫下的半定量 RT-PCR 分析
Fig. 6 Expression analysis of *TaMYB32* by semiquantitative RT-PCR in Chinese Spring under salt stress

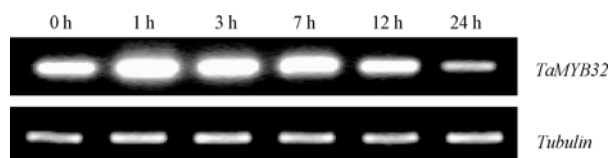


图 7 茶淀红中 *TaMYB32* 在盐胁迫下的半定量 RT-PCR 分析
Fig. 7 Expression analysis of *TaMYB32* by semiquantitative RT-PCR in Chadianhong under salt stress

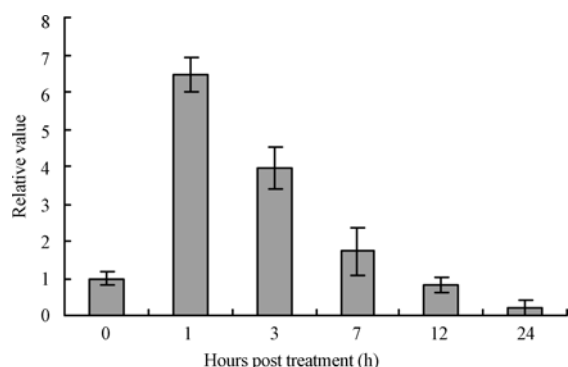


图 8 茶淀红中 *TaMYB32* 在盐胁迫下的实时定量 RT-PCR 分析
Fig. 8 Expression analysis of *TaMYB32* by Real-time RT-PCR in Chadianhong under salt stress

3 讨论

在小麦基因组进化过程中, 大约有 21% 的基因发生了复制, 这种复制有 83% 发生在二倍体水平, 17% 发生在多倍体水平^[19-21]。本研究所克隆的 *TaMYB32* 基因在六倍体小麦 3 个基因组以及对应的小麦二倍体祖先种中均存在 2 个拷贝, 表明这个基因的复制是在二倍体水平上发生的。同时, 因为该基因的 1 个拷贝在 3 个小麦二倍祖先种中是完全相同的, 据此可以推测这种复制应该是在二倍体材料从它们共同的祖先中分化出来之前发生的, 而在之后的进化过程中, 其中的 1 个拷贝以最原始的形式保留下来, 直到今天仍未发生任何变化, 另外的 1 个拷贝则发生了一些变化, 这种变化主要是在二倍体水平发生的, 因为我们通过对小麦二倍体祖先种和六倍体小麦的序列比较分析发现, 3 个小麦二倍体祖先种之间的序列差异远远大于它们与六倍体小麦相应基因组的序列之间的差异。同时, 我们还在其他物种中发现了该基因的同源基因, 通过进化分析

发现, *TaMYB32* 基因与来自水稻和玉米中的一个 MYB 转录因子基因具有很高的相似性(图 4-A)。对来自不同物种的 MYB 转录因子的 MYB 结构域氨基酸序列的分析, 发现来自不同物种的 MYB 转录因子在该区域的序列非常保守, 其中有 44 个位点是完全一样的, 占整个结构域的 42.3%, 表明 MYB 结构域在基因的进化过程中是非常保守的(图 4-B)。MYB 结构域在功能上是通过形成一个特定的结构, 参与对目标作用序列的识别, 因此可以推断这些保守的位点相对于其他位点在对靶序列的识别上发挥着更重要的作用, 这对于研究 MYB 转录因子对靶基因的识别机制具有重要意义。

植物在受到外界逆境胁迫后, 会通过启动自身一系列的调节机制来响应外界环境的改变, 在这个过程中, 转录因子发挥着重要的作用^[1-2]。*TaMYB32* 是一个 R2R3-MYB 类型的转录因子基因, 在受到盐胁迫后, 其表达在盐敏感品种中国春和耐盐品种茶淀红中都受到了诱导, 但表现为不同的模式。在耐盐小麦品种茶淀红中, *TaMYB32* 受诱导的时间更早且程度也要强于盐敏感品种中国春, 其在 1 h 内就可以达到处理前的 6 倍以上, 这说明 *TaMYB32* 很有可能在小麦的盐胁迫响应过程中发挥着重要作用。

4 结论

在小麦中克隆了一个受盐胁迫诱导表达的基因 *TaMYB32*, 该基因编码一个 R2R3-MYB 转录因子。*TaMYB32* 被定位在小麦第六同源群, 在小麦二倍体祖先种和六倍体小麦的 3 个基因组中各有 2 个拷贝, 其中一个拷贝在进化过程中非常保守, 其序列以最原始的形式保留了下来。*TaMYB32* 在根、茎、叶、雌蕊及花药中均有很强表达。在盐胁迫下, 该基因在耐盐品种茶淀红中表现出与盐敏感品种中国春中不同的表达模式, 其表达量在受胁迫 1 h 后迅速增加至处理前的 6 倍以上, 表明该基因很有可能在小麦的盐胁迫响应过程中发挥着重要作用。

致谢: 郑伶俐、张素霞和潘磊协助测序工作, 刘骥同学为试验材料的准备提供帮助, 在此表示衷心感谢。

References

- [1] Nakashima K, Ito Y, Yamaguchi-Shinozaki K. Transcriptional regulatory networks in response to abiotic stresses in Arabidopsis and grasses. *Plant Physiol*, 2009, 149: 88-95
- [2] Yamaguchi-Shinozaki K. Gene networks involved in drought

- stress response and tolerance. *J Exp Bot*, 2007, 58: 221–227
- [3] Kreps J A, Wu Y, Chang H S, Zhu T, Wang X, Harper J. Transcriptome changes for *Arabidopsis* in response to salt, osmotic, and cold stress. *Plant Physiol*, 2002, 130: 2129–2141
- [4] Seki M, Narusaka M, Ishida J. Monitoring the expression profiles of 7000 *Arabidopsis* genes under drought, cold, and high-salinity stresses using a full-length cDNA microarray. *Plant J*, 2002, 31: 279–292
- [5] Pabo C O, Sauer R T. Transcription factors: Structural families and principles of DNA recognition. *Annu Rev Biochem*, 1992, 61: 1053–1095
- [6] Riechmann J L, Heard J, Martin G, Reuber L, Jiang C, Keddie J, Adam L, Pineda O, Ratcliffe O J, Samaha R R, Creelman R, Pilgrim M, Broun P, Zhang J Z, Ghandehari D, Sherman B K, Yu G. *Arabidopsis* transcription factors: Genome-wide comparative analysis among eukaryotes. *Science*, 2000, 290: 2105–2110
- [7] Rosinski J A, Atchley W R. Molecular evolution of the Myb family of transcription factors: Evidence for polyphyletic origin. *Mol Evol*, 1998, 46: 74–83
- [8] Jin H, Martin C. Multifunctionality and diversity within the plant MYB-gene family. *Plant Mol Biol*, 1999, 41: 577–585
- [9] Ogata K, Morikawa S, Nakamura H, Hojo H, Yoshimura S, Zhang R, Aimolo S, Ametani Y, Hirata Z, Sarai A, Ishii S, Nishimura Y. Comparison of the free and DNA-complexed forms of the DNA-binding domain of c-Myb. *Nat Struct Biol*, 2005, 2: 309–320
- [10] Ogata K, Morikawa S, Nakamura H, Sekikawa A, Inoue T, Kana H, Sarai A, Ishii S, Nishimura Y. Solution structure of a specific DNA complex of the Myb DNA-binding domain with cooperative recognition helices. *Cell*, 1997, 79: 639–648
- [11] Urao T, Yamaguchi-Shinozaki K, Urao S, Shinozaki K. An *Arabidopsis* MYB homolog is induced by dehydration stress and its gene product binds to the conserved MYB recognition sequence. *Plant Cell*, 1993, 5: 1529–1539
- [12] Abe H, Urao T, Ito T, Seki M, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K. *Arabidopsis AtMYC2* (bHLH) and *AtMYB2* (MYB) function as transcriptional activators in abscisic acid signaling. *Plant Cell*, 2003, 15: 63–78
- [13] Cominelli E, Sala T, Calvi D, Gusmaroli G, Tonelli C. Overexpression of the *Arabidopsis AtMYB41* gene alters cell expansion and leaf surface permeability. *Plant J*, 2008, 53: 53–64
- [14] Jung C K, Seo J S, Han S W, Koo Y, Kim C H, Song S I, Nahm B H, Choi Y D, Cheong J. Overexpression of *AtMYB44* enhances stomatal closure to confer abiotic stress tolerance in transgenic *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2008, 146: 623–635
- [15] Denekamp M, Smeekens S C. Integration of wounding and osmotic stress signals determines the expression of the *AtMYB102* transcription factor gene. *Plant Physiol*, 2003, 132: 1415–1423
- [16] Vannini C, Locatelli F, Bracale M, Magnani E, Marsoni M, Osnato M, Mattana M, Baldoni E, Coraggio I. Overexpression of the rice *Osmyb4* gene increases chilling and freezing tolerance of *Arabidopsis thaliana* plants. *Plant J*, 2004, 37: 115–127
- [17] Dai X, Xu Y, Ma Q, Xu W, Wang T, Xue Y, Chong K. Overexpression of an R1R2R3 MYB gene, *OsMYB3R-2*, increases tolerance to freezing, drought, and salt stress in transgenic *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2007, 143: 1739–1751
- [18] Lee T G, Jang C S, Kim J Y, Kim D S, Park J H, Kim D Y, Seo Y W. A Myb transcription factor (*TaMyb1*) from wheat roots is expressed during hypoxia: roles in response to the oxygen concentration in root environment and abiotic stresses. *Physiol Plant*, 2007, 129: 375–385
- [19] Qi L L, Echalié B, Chao S, Lazo G R, Butler G E, Anderson O D, Akhunov E D, Dvorák J, Linkiewicz A M, Ratnasiri A, Dubcovsky J, Bermudez-Kandianis C E, Greene R A, Kantety R, La Rota C M, Munkvold J D, Sorrells S F, Sorrells M E, Dilbirligi M, Sidhu D, Erayman M, Randhawa H S, Sandhu D, Bondareva S N, Gill K S, Mahmoud A A, Ma X F, Miftahudin, Gustafson J P, Conley E J, Nduati V, Gonzalez-Hernandez J L, Anderson J A, Peng J H, Lapitan N L V, Hossain K G, Kalavacharla V, Kianian S F, Pathan M S, Zhang D S, Nguyen H T, Choi D W, Fenton R D, Close T J, McGuire P E, Qualset C O, Gill B S. A chromosome bin map of 16 000 expressed sequence tag loci and distribution of genes among the three genomes of polyploid wheat. *Genetics*, 2004, 168: 701–712
- [20] Randhawa H S, Dilbirligi M, Sidhu D, Erayman M, Sandhu D, Bondareva S, Chao S, Lazo G R, Anderson O D, Miftahudin Gustafson J P, Echalié B, Qi L L, Gill B S, Akhunov E D, Dvorák J, Linkiewicz A M, Ratnasiri A, Dubcovsky J, Bermudez-Kandianis C E, Greene R A, Sorrells M E, Conley E J, Anderson J A, Peng J H, Lapitan N L V, Hossain K G, Kalavacharla V, Kianian S F, Pathan M S, Nguyen H T, Endo T R, Close T J, McGuire P E, Qualset C O, Gill K S. Deletion mapping of homoeologous group 6-specific wheat expressed sequence tags. *Genetics*, 2004, 168: 677–686
- [21] Akhunov E D, Goodyear A W, Geng S, Qi L L, Echalié B, Gill B S, Miftahudin Gustafson J P, Lazo G, Chao S M, Anderson O D, Linkiewicz A M, Dubcovsky J, La Rota M, Sorrells M E, Zhang D S, Nguyen H T, Kalavacharla V, Hossain K, Kianian S F, Peng J H, Lapitan N L V, Gonzalez-Hernandez J L, Anderson J A, Choi D W, Close T J, Dilbirligi M, Gill K S, Walker-Simmons M K, Steber C, McGuire P E, Qualset C O, Dvorak J. The organization and rate of evolution of wheat genomes are correlated with recombination rates along chromosome arms. *Genome Res*, 2003, 13: 753–763