

大豆 MYB 转录因子基因 *GmMYB174* 的克隆及分子特性分析

魏麦玲^{1,2}, 裴丽丽², 刘佳明², 闵东红¹, 陈明², 李连城², 马有志², 徐兆师², 张小红¹

(¹西北农林科技大学生命科学院/旱区作物逆境生物学国家重点实验室, 陕西杨凌 712100;

²中国农业科学院作物科学研究所/国家农作物基因资源与基因改良重大科学工程/农业部麦类生物学与遗传育种重点实验室, 北京 100081)

摘要: 克隆获得了大豆转录因子 MYB 基因 *GmMYB174*, 该基因序列全长 1086 bp, 编码 361 个氨基酸, 属于 MYB-related 家族。生物信息学分析表明大豆 *GmMYB174* 与番茄、苜蓿、葡萄等物种同源性较高, 序列分析表明包含 2 个保守的 Trp(W) 位点和 1 个保守基序 SHAQKFF。亚细胞定位结果显示 *GmMYB174* 定位于细胞核中; 组织表达量显示 *GmMYB174* 在多个组织均有表达, 其中在上胚轴中表达量最高。启动子元件分析表明 *GmMYB174* 包含 ABRE、MYB、MYC、LTRE、GT-1 等逆境胁迫应答元件。实时荧光定量 PCR 分析表明 *GmMYB174* 在干旱、盐、ABA 处理下均有响应。因此, *GmMYB174* 可能参与多种胁迫应答途径。

关键词: 大豆; MYB 转录因子; 非生物胁迫; 响应机制; 亚细胞定位

Isolation and Molecular Characteristics Analysis of Soybean Transcription Factor Gene *GmMYB174*

WEI Mai-ling^{1,2}, PEI Li-li², LIU Jia-ming², MIN Dong-hong¹,

CHEN Ming², LI Lian-cheng², MA You-zhi², XU Zhao-shi², ZHANG Xiao-hong¹

(¹College of Life Sciences, Northwest A&F University/State Key Laboratory of Crop Stress Biology for Arid Areas, Yangling Shaanxi 712100;

²Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences (CAAS)/National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement/Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Triticeae Crops, Ministry of Agriculture, Beijing 100081)

Abstract: The full sequence of *GmMYB174* was isolated from soybean, including 1086 bp and encoding 361 amino acids and belonged to MYB-related family. Bioinformatics analysis indicated that *GmMYB174* shared high similarity with tomato, alfalfa and grape, containing 2 conserved locus and a motif of SHAQKFF. Subcellular localization analysis showed that *GmMYB174* located in nucleus. Expression analysis showed that *GmMYB174* expressed in many tissues and peaked in epicotyl. Promoter analysis indicated that *GmMYB174* contained ABRE, MYB, MYC, LTRE and GT-1. Q-RT-PCR showed that *GmMYB174* involved in various abiotic stresses such as drought, salt, and ABA. Therefore, *GmMYB174* might participated in multi-environmental stress responses.

Key words: soybean; MYB transcription factor; abiotic stress; responsive mechanism; subcellular localization

收稿日期: 2014-06-21 修回日期: 2014-08-25 网络出版日期: 2014-12-11

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20141211.2221.019.html>

基金项目: 转基因生物新品种培育科技重大专项(2014ZX0800203B); 陕西省科技计划项目(2014K02-04-05)

第一作者主要从事分子生物学研究。E-mail: weimailing@126.com

通信作者: 张小红, 主要从事植物细胞工程育种及遗传改良的研究。E-mail: zhxh2493@126.com

徐兆师, 主要从事植物抗逆分子生物学的研究。E-mail: xuzhaoshi@caas.cn

干旱、盐碱等非生物胁迫与植物生长发育密切相关,严重影响作物的产量。植物在长期进化过程中形成了独特的机制来应对这些非生物胁迫,即通过感知外界环境的变化,启动下游抗逆相关基因的表达。

类钙调磷酸酶 B 亚基蛋白 (CBL, calcineurin B-like) 是植物中特异的 Ca^{2+} 结合蛋白,通过感知细胞内 Ca^{2+} 的变化与下游 Ser/Thr 蛋白激酶 CIPK (CBL-interacting protein kinase) 相互作用来介导 Ca^{2+} -CBL-CIPK 信号通路^[1]。CBL 作为 Ca^{2+} 感受器,具有 4 个典型的 Ca^{2+} 结合结构域 EF 手,而且各个 CBL 成员之间的 EF 手序列相对比较保守^[1]。植物体内,在没有 CBL 的情况下,CIPK 没有活性,而 CBL 蛋白缺乏其他功能区域,只能通过与下游蛋白比如 CIPK 相互作用才能将信号向下游传递^[2]。

在拟南芥基因组中有 10 种 CBL 和 26 种 CIPK,理论上可以组成多种信号通路,但由于 CBL 基序 EF 手高度保守,因此在功能上存在一定的冗余^[3]。目前,关于拟南芥 CBL1、CBL4 (SOS3) 和 CBL9 的研究较为详尽,研究证实均在逆境胁迫应答中发挥着重要作用。过表达和突变体发现, *AtCBL1* 在盐、旱胁迫中作为正调节因子提高了转基因拟南芥抗盐性和耐旱性^[4]。 *AtCBL9* 能够提高幼苗对 ABA 的应答,同时也参与调控 ABA 的合成^[5]。贾霖等^[6]鉴定了在逆境胁迫下丰度发生变化的 6 个水稻 CBL 蛋白 (*OsCBL1/2/5/6/8/10*),结果表明 6 个 CBL 基因在旱、热、涝情况下表达量都会发生变化。T. J. Kleist 等^[7]分析了苔藓 CBL 和 CIPK 的同源性,进化分析结果表明苔藓 CBL-CIPK 信号通路是现代高等植物和藻类 CBL-CIPK 信号网络的祖先。目前,人们对钙信号系统介导的逆境信号转导机制已经取得了不少进展,但是由于钙信号系统参与的生物过程错综复杂,长期的进化选择压力必然形成了一套严密协调的作用机制,要完全了解整个钙信号网络仍有一些问题亟待解决。

大豆是重要的油料作物,随着气候的恶化,需要培育综合抗性强的品种。本实验室发现了一个大豆 CBL 基因 *GmCBL1*^[1],过表达 *GmCBL1* 不仅显著提高了转基因拟南芥的抗旱性和耐盐性,而且促进了转基因拟南芥下胚轴的伸长,提高了赤霉素合成相关基因的表达。为了进一步研究 *GmCBL1* 的作用机理,本实验室利用酵母双杂交系统

筛选大豆 cDNA 文库,以期获得 *GmCBL1* 的互作蛋白,其中获得一个 MYB-related 基因 *GmMYB174*。

MYB 转录因子是植物最大的转录因子家族之一,该家族成员包含不同数目的 MYB 结构域,根据所包含 MYB 基序数目可以分为 4R-MYB、3R-MYB、R2R3-MYB、MYB-related 4 个亚类^[8]。 *GmMYB174* 属于 MYB-related 亚族,据报道,MYB-related 转录因子能够参与植物次生代谢调控、激素和非生物胁迫的应答,并对细胞分化以及植物的生长发育具有重要作用。研究发现,复苏草中 *Cpm10* 在 ABA 胁迫下表达量提高,而 *Cpm7* 在干旱胁迫下表达量降低^[9]。水稻 *OsMYB48-1* 能够通过调节 ABA 的合成来参与旱、盐应答^[10]。在大豆中,关于 MYB-related 基因研究的比较少,因此对 *GmMYB174* 进一步研究以期获得 *GmMYB174* 参与非生物胁迫应答的机制,为改良大豆抗性提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料及胁迫处理

大豆 (*Glycine max*) 铁丰 8 号由中国农业科学院作物科学研究所邱丽娟老师提供。大豆种植于营养土中(蛭石:营养土 = 1:1),在适宜条件下 28 °C 生长 15 d,至 2 对叶片后进行胁迫处理。胁迫处理条件如下:干旱(将幼苗放在滤纸上)、NaCl (250 mmol/L)、ABA (100 $\mu\text{mol/L}$)。在处理 0 h、0.5 h、1 h、2 h、5 h、12 h、24 h 时取样,将样品迅速冻于液氮中, -80 °C 保存备用。野生型拟南芥为本实验室保存。

1.2 基因的克隆及生物信息学分析

取生长 15 d 的大豆铁丰 8 号幼苗,利用 Trizol 试剂盒 (TIANGEN, 北京) 提取 RNA,用 PrimeScript™ RT reagent Kit (Takara, 大连) 反转录试剂盒合成 cDNA^[11]。并根据此 cDNA 序列设计特异性引物,上游引物为:5'-ATTGTAAGGAGGGAAGCAAAG-3',下游引物为:5'-GCCAACTCACATCCAGCAG-3',扩增程序为:98 °C 预变性 5 min;98 °C 变性 20 s,56 °C 退火 20 s,72 °C 延伸 1 min 10 s,34 个循环,72 °C 延伸 10 min。

根据 *GmMYB174* 基因进行同源性搜索,构建 MYB-related 家族系统进化树,并分析其保守域。从大豆基因组数据库 Phytozome (<http://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html>) 截取 *GmMYB174* 基因 ATG 上游 2000 bp 作为启动子。利用植物顺式作用元件数据库 PLACE (<http://www.dna.affrc.go.jp/PLACE/>) 对 *GmMYB174* 基因启动子顺式作用元件

进行分析。

1.3 亚细胞定位

利用 In-fusion 技术构建 *GmMYB174*-hGFP 载体 (16318hGFP 载体为本实验室保存), 选取 4 周左右的拟南芥制备原生质体, 利用 PEG 介导的方法将重组质粒转化到拟南芥中, 培养 18 h, 激光共聚焦显微镜观察^[11]。

1.4 RNA 提取及表达模式分析

利用 Trizol 试剂盒 (TIANGEN, 北京) 提取胁迫处理后的大豆样品, 用 PrimeScript™ RT reagent Kit (Takara, 大连) 反转录试剂盒合成 cDNA^[11]。以 cDNA 为模板, 大豆 *Actin* 基因作为内参 (上游引物 5'-CAGAGAAAGTGCCCAAATCATGT-3', 下游引物 5'-TTGCATACAAGGAGAGAACAGCTT-3'), *GmMYB174* 特异引物 (上游引物 5'-TCCATACAAGCAGTTTTA-CACG-3', 下游引物 5'-TTGCCATCATCCCCCA-3') 进行组织表达模式分析。总反应体系为 20 μL, 所使用仪器为 Applied Biosystems 7500 Real Time PCR System, 程序为 95 °C 预变性 5 min; 95 °C 变性 20 s, 56 °C 退火 20 s, 72 °C 延伸 30 s, 40 个循环, 在 72 °C 收集荧光信号, 整理并分析数据。

2 结果与分析

2.1 *GmMYB174* 基因的克隆

序列分析结果显示, *GmMYB174* 基因全长为 1086 bp, 编码 361 个氨基酸, 分子量为 39.7 kD, *GmMYB174* 的等电点为 8.56。氨基酸序列分析发现, *GmMYB174* 只包含一个 MYB 基序, 属于 MYB-related 家族。

2.2 *GmMYB174* 基因序列分析

根据大豆基因组数据库, 对 *GmMYB174* 基因外

显子-内含子结构进行分析。结果表明, 该基因编码区包含 UTR 区、6 个外显子以及 5 个内含子, 且外显子和内含子交替分布。三级结构预测可信度为 99.6%。如图 1 所示, MYB-related 基序保守域包含 3 个 α 螺旋, 有助于折叠成正确的蛋白结构。



图 1 *GmMYB174* 的三级结构预测

Fig. 1 Tertiary structure prediction of *GmMYB174*

以 *GmMYB174* 蛋白为探针搜索 NCBI 数据库, 结果表明不同物种中有若干 MYB 转录因子与 *GmMYB174* 有一定的相似性, 包括番茄、葡萄、苜蓿等物种。采用 PHYRE2 和 DNAMAN 进行多序列比对 (图 2), 结果表明, 不同物种 MYB-related 基因具有很高的相似性, 保守域序列都包含有 2 个 MYB 基序典型的 Trp(W) 位点, 间隔分布, 第 3 个 W 位点被保守基序 SHAQKFF 取代; 除包含维持 MYB 基序必需的保守位点外, 在 W 间隔区域仍包含保守的氨基酸序列, 第 1 个 W 之前的 PYTI、KQRE, 间隔序列的 EH、KFLEALKL 等序列都高度保守, 这些序列可能有助于蛋白的正确折叠^[8]。

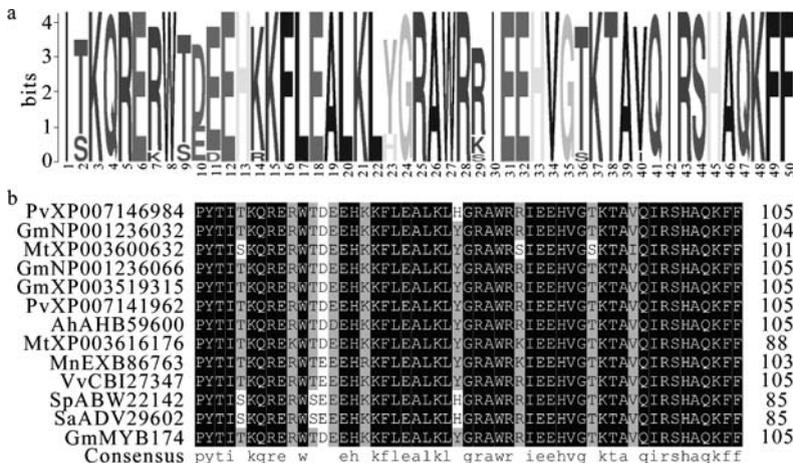
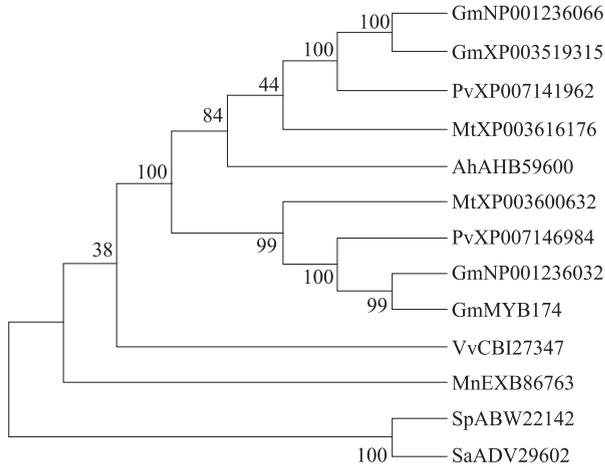


图 2 物种间 MYB-related 保守域序列比对分析

Fig. 2 Alignment of MYB-related motifs among various species

利用 MEGA 5.1 构建系统发育树,其中 Bootstrap 值设定为 1000,采用邻接法构树。序列比对显示 *GmMYB174* 与 *GmNP00123600632* 相似度最高达到 92%,其次与 *PvXP007146984* 相似度为 79%。通常,氨基酸序列相似性越高,亲缘关系越近。如图 3 所示,*GmMYB174* 与 *GmNP00123600632* 和 *PvXP007146984* 在进化树上位置靠近,说明它们亲缘关系比较近。



Gm: 大豆; Pv: 菜豆; Mt: 苜蓿; Ah: 花生;

Vv: 葡萄; Mn: 桑树; Sp: 秘鲁番茄; Sa: 番茄

Gm: *Glycine max*, Pv: *Phaseolus vulgaris*, Mt: *Medicago truncatula*,

Ah: *Arachis hypogaea*, Vv: *Vitis vinifera*, Mn: *Morus notabilis*,

Sp: *Solanum peruvianum*, Sa: *Solanum arcanum*

图 3 *GmMYB174* 基因在不同物种中的系统发育分析

Fig. 3 Phylogenetic analysis of *GmMYB174* gene in different plant species

根据大豆数据库预测 *GmMYB174* 的组织表达量,如图 4 所示,*GmMYB174* 在上胚轴、下胚轴、子叶、叶片、根中均有表达,其中在上胚轴中表达量最高,为 355 Transcripts per million (TPM),下胚轴表达量最低,为 43 TPM。赵毓橘等^[12]研究发现上胚轴生长与细胞有效渗透势相关,而细胞渗透势与旱盐等非生物胁迫相关,因此推测 *GmMYB174* 可能参与旱盐等非生物胁迫应答。

2.3 亚细胞定位

GmMYB174-GFP 和 GFP 对照的亚细胞定位结果如图 5 所示,对照 GFP 蛋白分布在整个细胞中,而 *GmMYB174*-GFP 蛋白主要定位在细胞核上,表明 *GmMYB174* 作为转录因子,能够定位在细胞核中发挥功能。

2.4 启动子顺式作用元件分析

为了研究 *GmMYB174* 基因的调控机制,本研究

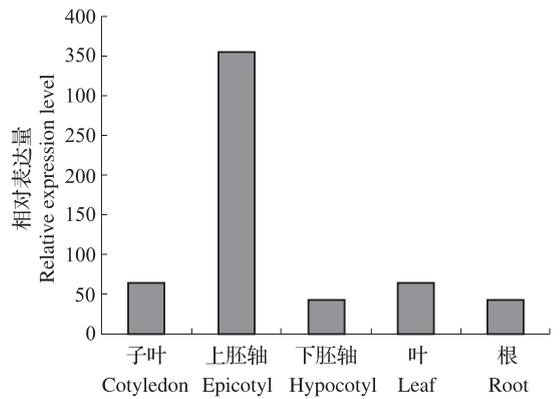


图 4 *GmMYB174* 基因在不同大豆组织中的表达量

Fig. 4 The expression levels of *GmMYB174* gene in different soybean tissues

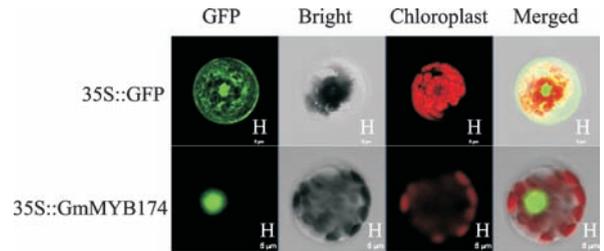


图 5 *GmMYB174* 亚细胞定位

Fig. 5 Subcellular localization of *GmMYB174* protein

选取起始密码子上游 2000 bp 作为启动子区,利用 Plant Cis-acting Regulatory DNA Elements (PLACE) 软件分析 *GmMYB174* 基因的启动子顺式作用元件。结果如表 1 所示,该区域包含多个干旱、盐、ABA 等非生物胁迫响应相关元件^[13],如 ABA-responsive element (ABRE)、MYB、MYC、low-temperature-responsive element (LTRE)、GT-1。其中 GT-1 元件含量最高为 44 个,其次为 MYB 元件,数量为 15 个。说明 *GmMYB174* 基因可能参与了干旱、盐、ABA 等胁迫响应。

表 1 *GmMYB174* 启动子顺式作用元件数量

Table 1 Distribution and numbers of cis-elements of *GmMYB174* gene

启动子元件 Promoter cis-elements	数目 Numbers	识别序列 Target sequence	功能 Function
ABRE	12	ACGT	ABA 响应元件
MYB	15	C/TAACNA/G	干旱响应元件
MYC	8	CANNTG	ABA、低温胁迫 响应元件
LTRE	3	CCGAA/C	低温响应元件
GT-1	44	GAAAAA	参与盐胁迫诱导

2.5 非生物胁迫表达分析

为进一步解析非生物胁迫和外源激素对 *GmMYB174* 基因表达的影响,对大豆幼苗分别进行干旱、高盐、ABA 胁迫处理,提取 RNA 并反转录为cDNA,

用实时荧光定量 RT-PCR 检测 *GmMYB174* 基因在胁迫处理下的表达量。如图 6 所示,在 ABA 和干旱处理下 *GmMYB174* 基因的表达量下调,在 NaCl 处理下表达量上调,其表达倍数最高达到 10 倍。

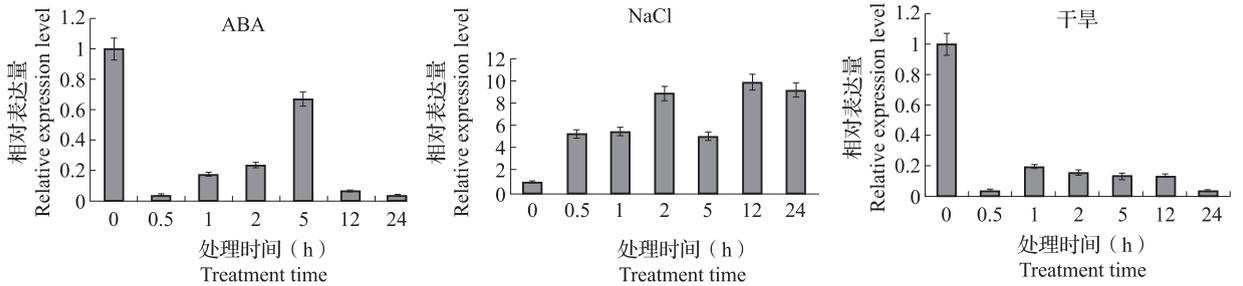


图 6 *GmMYB174* 基因在胁迫处理下的表达情况

Fig. 6 Expressions of *GmMYB174* gene under abiotic stress

3 讨论

转录因子通过结合启动子顺式作用元件来调节下游基因的表达,对细胞分化、细胞周期、植物叶片等器官的形成以及逆境胁迫等具有重要的调节作用^[14]。本研究中 *GmMYB174* 编码 361 个氨基酸,保守序列能够形成 3 个 α -螺旋,属于 MYB-related 家族。MYB-related 转录因子是一个庞大的家族,大量存在于真核生物中。拟南芥和水稻中分别有 64 个和 70 个 MYB-related 家族成员^[15]。MYB-related 家族是 MYB 转录因子的一个亚类,包含 1 个 MYB 基序,该基序包括 50~53 个氨基酸,并含有 3 个有规律性分布的 Tyr 位点,高度保守的氨基酸残基和间隔序列。每个重复序列都有形成 α -螺旋的能力,3 个 Tyr 位点形成疏水中心参与 DNA-蛋白质互作,C 端保守残基使 MYB 形成螺旋-转角-螺旋结构,在特异性的识别位点与 DNA 大沟发生作用^[16]。

据报道,MYB-related 家族基因可能编码一类重要的端粒结合蛋白,能够维持染色体结构的完整性并在转录水平调节基因表达,从而发挥作用^[17]。如水稻 *RTBPI* 基因编码的 DNA 结合蛋白能够形成同源二聚体来特异性的识别植物中的端粒序列 TT-TAGGG^[17]。

大豆是油料作物,是蛋白和异黄酮的重要来源。据报道,MYB-related 基因参与生物体内代谢物质的合成^[18]。S. Kobayashi 等^[18]发现 MYB-related 基因参与花青素的合成,表明 MYB-related 转录因子能够调控植物中物质的代谢。MYB-related 基因不仅参

与生物体内代谢物质的合成,而且还参与了非生物胁迫应答。花生中 20 个 MYB-related 基因在多种非生物胁迫下均有应答^[19]。过表达山羊草 *LcMYB* 基因能够显著提高拟南芥的耐盐性^[20]。*AtMYB2* 是干旱诱导的 MYB-related 基因,研究表明该基因提高了与 ABA 胁迫相关基因的表达^[21]。转录因子通过结合顺式作用元件来发挥作用,目前发现的与逆境胁迫相关的顺式作用元件主要有 ABRE、DRE、MYB、MYC、GT-1、LTRE 等。ABRE 在干旱和高盐胁迫条件下能够提高基因的表达,MYB 元件参与干旱和 ABA 应答,MYC 元件可以提高植物体内与 ABA 应答相关基因的表达^[8],LTRE 和 GT-1 分别参与低温和盐胁迫应答。本研究发现 *GmMYB174* 启动子包含与 ABA、干旱、盐等胁迫相关的元件,这些元件的发现表明 *GmMYB174* 可能受不同环境因素的诱导表达。非生物胁迫表达分析发现 *GmMYB174* 对盐的响应较为明显,这可能与启动子区包含盐胁迫响应元件数量较多有关,研究表明 GT-1 元件可以和 bZIP 类转录因子的异源二聚体形式结合来提高植物对高盐的抗性^[13]。除此之外,*GmMYB174* 对 ABA、干旱等胁迫均有响应。植物对干旱的响应可以分为依赖 ABA 和不依赖 ABA 两条途径,*GmMYB174* 对 ABA、干旱的响应均表现为负调,说明该基因在干旱胁迫下的调控可能不依赖于 ABA。本研究发现 *GmMYB174* 启动子区包含多种非生物胁迫应答元件,并且在多种胁迫下表达量均有变化。因此,推测 *GmMYB174* 可能参与多种胁迫应答途径。

参考文献

- [1] Li Z Y, Xu Z S, He G Y, et al. Overexpression of soybean *Gm-CBL1* enhances abiotic stress tolerance and promotes hypocotyl elongation in *Arabidopsis* [J]. *Biochem Bioph Res Co*, 2012, 427: 731-736
- [2] Zielinski R E. Calmodulin and calmodulin-binding proteins in plants [J]. *Plant Mol Biol*, 1998, 49: 697-725
- [3] Albreeht V, Ritz O, Linder S, et al. The NAF domain defines a novel protein-protein interaction module conserved in Ca^{2+} -regulated kinases [J]. *EMBO J*, 2001, 20: 1051-1063
- [4] Cheong Y H, Kim K N K, Pandey G, et al. CBL1, a calcium sensor that differentially regulates salt, drought, and cold responses in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2003, 15: 1833-1845
- [5] Pandey K G, Cheong Y H, Kim K N, et al. The calcium sensor calcineurin B-Like 9 modulates abscisic acid sensitivity and biosynthesis in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2004, 7(16): 1912-1924
- [6] 贾霖, 刘雨萌, 范伟, 等. 水稻类钙调磷酸酶亚基 B 蛋白质在逆境胁迫下的表达 [J]. *中国农业科学*, 2013, 46(1): 1-8
- [7] Kleist T J, Spencley A L, Luan S. Comparative phylogenomics of the CBL-CIPK calcium-decoding network in the moss *Physcomitrella*, *Arabidopsis*, and other green lineages [J]. *Front Plant Sci*, 2014, 5: 1-17
- [8] 陈俊, 王宗阳. 植物 MYB 类转录因子研究进展 [J]. *植物生理与分子生物学学报*, 2002, 28(2): 81-88
- [9] Glover B J, Perez-Rodriguez M, Martin C. Development of several epidermal cell types can be specified by the same MYB-related plant transcription factor [J]. *Development*, 1998, 125: 3497-3508
- [10] Xiong H Y, Li J J, Liu P L, et al. Overexpression of *OsMYB48-1*, a novel MYB-related transcription factor, enhances drought and salinity tolerance in rice [J]. *PLoS One*, 2014, 9: e92913
- [11] Liu P, Xu Z S, Lu P P, et al. A wheat *PI4K* gene whose product possesses threonine autophosphorylation activity confers tolerance to drought and salt in *Arabidopsis* [J]. *J Exp Bot*, 2013, 4: 2915-2927
- [12] 赵毓橘. 绿豆幼苗上胚轴伸长生长与细胞渗透势的相关性 [J]. *植物生理学报*, 1985, 11(4): 392-402
- [13] 郭晋艳, 郑晓瑜, 邹翠霞, 等. 植物非生物胁迫诱导启动子顺式元件及转录因子研究进展 [J]. *生物技术通报*, 2011(4): 16-30
- [14] Xu Z S, Chen M, Li L C, et al. Functions and application of the AP2/ERF transcription factor family in crop improvement [J]. *J Integr Plant Biol*, 2011, 53: 570-585
- [15] Chen Y H, Yang X Y, He K, et al. The MYB transcription factor superfamily of *Arabidopsis* expression analysis and phylogenetic comparison with the rice MYB family [J]. *Plant Mol Biol*, 2006, 60: 107-124
- [16] Zhang L C, Zhao G Y, Xia C, et al. Overexpression of a wheat MYB transcription factor gene, *TaMYB56-B*, enhances tolerances to freezing and salt stresses in transgenic *Arabidopsis* [J]. *Gene*, 2012, 11(4): 100-107
- [17] Yu E Y, Kim S E, Kim J H, et al. Sequence-specific DNA recognition by the Myb-like domain of plant telomeric protein RTBP1 [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275: 24208-24214
- [18] Kobayashi S, Ishimaru M, Hiraoka K, et al. Myb-related genes of the Kyoho grape (*Vitis labruscana*) regulate anthocyanin biosynthesis [J]. *Planta*, 2002, 215: 924-933
- [19] Chen N, Yang Q L, Pan L J, et al. Identification of 30 MYB transcription factor genes and analysis of their expression during abiotic stress in peanut (*Arachis hypogaea* L.) [J]. *Gene*, 2014, 533(1): 332-345
- [20] Cheng L Q, Li X X, Huang X, et al. Overexpression of sheepgrass R1-MYB transcription factor LcMYB1 confers salt tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2013, 70: 252-260
- [21] Abe H, Urao T, Ito T, et al. *Arabidopsis* AtMYC2 (bHLH) and AtMYB2 (MYB) function as transcriptional activators in abscisic acid signaling [J]. *Plant Cell*, 2003, 15: 63-78
- [22] Yanagisawa S. Characterization of a nitrate-inducible transcriptional repressor NIGT1 provides new insights into DNA recognition by the GARP family proteins [J]. *Plant Signal Behav*, 2013, 8: e24447