西北农业学报 2021,30(1):109-115
Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica

网络出版日期:2020-12-15 doi:10.7606/j.issn.1004-1389.2021.01.013
网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1220.S.20201214.1420.030.html

地钱部分 *MYB* 家族基因在不同发育时期、部位以及激素处理下表达量差异分析

高旭东[1],傅 晶[1],崔洪昌[1,2]

(1.西北农林科技大学 生命科学学院,陕西杨凌 712100;2.佛罗里达州立大学 生物科学系,塔拉哈西,佛罗里达,美国 32306)

摘 要 为了研究植物适应陆地生活的机制,以较原始的陆生植物地钱(*Marchantia polymorpha* L.)作为研究对象,分析其部分 *MYB*(v-Myb avian myeloblastosis viral oncogene homolog)家族基因在不同发育时期,不同部位以及不同激素处理下的表达量变化。构建系统进化树确认地钱与拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中MYB转录因子亚家族 S14、S28 和 *AtCDC5* 同源的基因,使用 qRT-PCR 对不同生长时期、组织以及激素处理下目的基因表达量进行分析。qRT-PCR 分析结果表明,*MpR2R3-MYB20* 在胞芽中表达量最高,胞芽杯中最低,且在 0.1 μmol/L IAA 诱导下表达量显著上调;*MpR2R3-MYB8* 在分生区高表达,激素处理下表达量变化较小;*MpR2R3-MYB3* 和 *MpCDC5* 在 3 周分生区高表达,IAA 处理后下调;*MpR2R3-MYB18* 主要在胞芽和胞芽杯中表达,且受 ABA 诱导大幅上调;*MpR2R3-MYB16* 在全株中都有较高表达,在 0.1 μmol/L IAA 处理下显著上调,在其他激素处理下显著下调。这些结果说明上述基因在地钱不同器官或组织中具有调节生长、发育和抗逆的重要功能。

关键词 地钱;MYB 转录因子;非生物胁迫;IAA;ABA

中图分类号 Q941;Q786 **文献标志码** A **文章编号** 1004-1389(2021)01-0109-07

MYB(v-Myb avian myeloblastosis viral oncogene homolog)蛋白是一类数量庞大,功能种类繁多,存在于几乎所有真核生物的转录因子。MYB 结构域较为保守,主要包含 3 个重复,每个重复由编码 3 个 α-螺旋的 50～53 个氨基酸残基构成,其中第 2 和第 3 个 α-螺旋形成螺旋一转角一螺旋(HTH)结构,可直接嵌入 DNA 的大沟,发挥转录因子的 DNA 结合结构域的功能[1]。根据重复区域的数目和排布,MYB 蛋白可以分为不同的种类,具有单一 MYB 结构域的类 MYB 蛋白(R1/2 或 R3)、两种重复结构的 2R-MYB 蛋白(R2R3)、3 种重复结构的 3R-MYB 蛋白(R1R2R3)以及 4 种重复结构的 4R-MYB 蛋白(R1R2R2R1/2)[2]。在拟南芥(*Arabidopsist-haliana*)中,MYB 家族在植物体内激素合成,发育以及抗逆过程中都起到至关重要的作用[1]。

地钱(*Marchantia polymorpha* L.)是一种苔纲,地钱科地钱属的孢子植物。其内部含有的黄酮类、联苄类、香豆素类和萜类化合物赋予了地钱在临床上较高的药用价值[3]。地钱在系统发生上位于莱茵衣藻和小立碗藓这两种模式系统之间,被誉为进化史上首次登陆的植物之一,其部分生理特征具有藻类植物所特有的特性。为了适应陆地生活,地钱还进化出了适应陆地环境的新特征[4]。近年来,随着地钱的遗传转化体系的建立以及其基因组测序的完成,这种基因组小、冗余基因少、易于培养繁殖、便于遗传操作的苔藓逐渐成为研究植物进化和基因功能的新兴模式系统[5]。鉴于 MYB 家族在植物发育与抗逆等方面的重要功能,在地钱中研究 *MYB* 家族基因的功能将有可能揭示植物在进化过程中适应陆地生活的机制。

根据生物进化学及考古相关研究,植物从水生到陆生的过程发生在距今大约 4.5 亿年前[6],而植物气孔的出现可追溯到距今约 4 亿年前[7]。在植物登陆过程中,需要面对非常多来自陆地环

收稿日期:2020-05-22 **修回日期**:2020-07-12
基金项目:国家自然科学基金(31871493)。
第一作者:高旭东,男,硕士研究生,从事植物遗传与发育相关研究。E-mail:806834003@qq.com
通信作者:崔洪昌,男,教授,博士生导师,主要从事植物遗传与发育相关研究。E-mail:hcui@bio.fsu.edu

境的威胁，从紫外线照射到干旱胁迫都对早期陆生植物造成严峻挑战。控制植物体内水分的流失以及通过呼吸作用代谢能量就成为植物适应陆地生活关键性的功能，所以气腔（类似高等植物的气孔）的产生是地钱的一项重要革新。在高等植物中，MYB 亚家族 S28 具有控制气孔细胞命运、抗干旱和冷害胁迫的功能[8-9]，因此选择与亚家族 S28 同源的地钱 *MYB* 基因作为研究对象。

在整个演化过程中，从较原始的苔藓植物以形成胞芽杯的形式无性繁衍，到后来的高等植物产生侧生的器官生成更多的后代，在适应陆地生活的过程中，侧生组织起到至关重要的作用。在拟南芥中 MYB 亚家族 S14 主要起到控制叶腋分生组织发育的功能[10-11]，而与 S14 同源的地钱 *MYB* 家族基因 *GCAM1*（Mapoly0034s0034）具有调控胞芽杯发育的重要功能[12]，因此推测地钱中与 *GCAM1* 以及 S14 同源的 *MYB* 基因有可能与高等植物中侧生分生组织的进化具有联系，故选择 S14 的地钱同源基因作为研究对象。另一方面，拟南芥 *MYB* 基因 *AtCDC5* 在植物中起到调控细胞循环的作用，与维持茎尖分生组织有关，而其在地钱中的同源基因 *MpCDC5* 可能参与分生区的维持，所以也将 *MpCDC5* 选作目的基因。

通过构建拟南芥与地钱 MYB 家族（以 R2R3-MYB 为主）的系统进化树，同时参考前人研究[4,13]，最终选择 *MpR2R3-MYB20*（Mapoly0874s0001）、*MpR2R3-MYB8*（Mapoly0024s0094）、*MpR2R3-MYB3*（Mapoly0007s0265）、*MpR2- R3MYB18*（Mapoly0123s0012）、*MpR2-R3MYB16*（Mapoly0092s0005）和 *MpCDC5*（Mapoly0014s0195）6 个基因作为目的基因，并对它们在地钱不同生长时期和组织部位中的表达量进行实时定量 PCR 分析。此外，前人研究表明，ABA 能够在抗旱过程中调节气孔的导度以及调控胞芽杯的休眠[14-15]；外源施加较低浓度的 IAA 可以促进小立碗藓配子枝的形成及生长，同时还能明显促进原生质体细胞的再生及分裂[16]，0.5 μmol/L 的 IAA 能够调节地钱的发育与胞芽的休眠[17-18]。鉴于此，在外源施加 ABA 和 IAA 处理下，检测这些基因的表达水平是否发生变化。

1 材料与方法

1.1 材 料

植物材料：地钱 Takaragaike（Tak-1，雄性）和 Takaragaike（Tak-2 雌性），由福建农林大学山室千鹤子教授实验室馈赠。

1.2 方 法

1.2.1 目的基因的确定 使用拟南芥 MYB 转录因子 S14（共 6 个基因）、S28（共 2 个基因）亚家族和地钱全部 MYB 家族（共 60 个基因）的氨基酸序列构建系统进化树。同时参考 Bowman 等[4]关于不同物种 MYB 家族进化树，选取拟南芥 S14 与 S28 亚家族同源的地钱 *MYB* 基因作为目的基因。

1.2.2 实时定量 PCR 引物设计 确定目的基因后，按照产物总长度 150～250 bp 进行引物设计，*MpEF1a* 为内参基因。结果如表 1 所示，引物于北京奥科鼎盛生物公司合成。

表 1 目的基因实时定量 PCR 引物信息

Table 1 Informationof primers for qRT-PCR of target genes

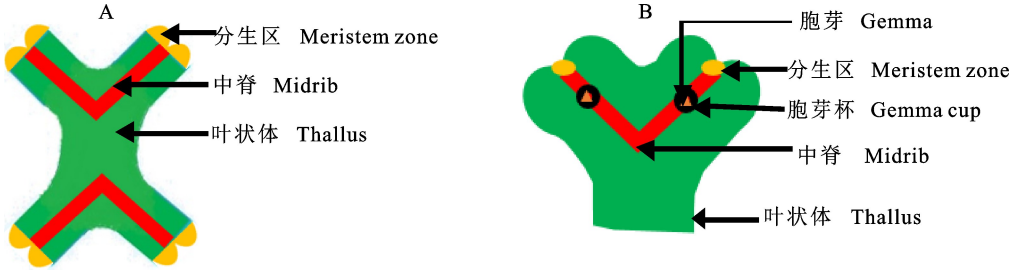
基因 Gene	上游引物（5′→3′） Forward primer（5′→3′）	下游引物（5′→3′） Reverse primer（5′→3′）	退火温度/℃ Annealing temperature
MpR2R3-MYB20	CAACACCAACAACAACATCAAC	ACGAGGGTTTCATGTAGCACT	57
MpR2R3-MYB8	ATTCTTCAAAGCAAAGGAGAC	CCAAATTGCCAATTATGTCTTC	55
MpR2R3-MYB3	AGATTGAGGTGAGAGACTTTATCTA	ACAGGTGTAGTAAGTCTTCTTCAAA	50
MpR2R3-MYB18	ATGGACGAAGTAATGGGCTGGCTAC	TGGGAGTTGGTGTGATGTGGAAGAT	60
MpR2R3-MYB16	GGAACAAAGAGGAGGACGATGAATTG	TCACACGTGCACCTCAAAGTTACCA	62
MpCDC5	GGCAATGGAAGAAGTATCCGTAGAA	GGTTTCTACCTCATTGAATCCCTCC	58
MpEF1a	CAGAGCGCGAGCGTGGTAT	CACCCAGAGTGAAAGCCAGGA	60

1.2.3 地钱的培养与激素处理 地钱于恒温生长间培养（光照周期 16 h 光照，8 h 黑暗；光照度 3 000 lx；室内平均温度 22 ℃，平均湿度 40%），地钱生长于含 1%琼脂的 1/2 B5 培养基中。

激素处理采取 0.5 μmol/L 与 0.1 μmol/L 的 IAA（BBIlife science 公司）以及 20 μmol/L 的 ABA（SIGMA 公司）进行试验，并于 2 周后取样，与无处理对照组比较，对目的基因表达量的变化进行测定，每个处理设置 4 个重复。

1.2.4 样品提取及保存 激素处理组使用 Tak-

2 作为试验样品,其中每个处理组及对照组设置 4 个培养皿,平均每个培养皿种 20 个样品,于 2 周大小时分别选取其中 2 个长势类似的培养皿,取全株样,鲜质量约 200 mg 置于液氮中。组织特异性试验使用的地钱样品为 Tak-1,每个不同样品分别种 4 个培养皿,每个培养皿种 20 个植株。取样分为 2 周分生区、2 周中脊、2 周全株、3 周分生区、3 周胞芽杯和胞芽,选取其中长势相同的 2 个培养皿取样,每个样品鲜质量约 200 mg 并置于液氮中。地钱不同组织部位见图 1。



A. 2 周龄植物;B. 3 周龄植物

A. 2-week-old plant;B. 3-week-old plant

图 1　地钱不同时期主要结构示意图

Fig. 1　Main structure of *Marchantia polymorpha* at different growth stages

1.2.5　样品 RNA 提取、反转录及实时定量 PCR　每个样品 200 mg,使用液氮研磨后用 Trizol (Takara 公司的 RNAisoplus,货号 9109)提取 RNA,反转录使用 Takara 公司的反转录试剂盒 PrimeScript™ Ⅱ 1st Strand cDNA Synthesis Kit (货号 6210A)进行 cDNA 第 1 链合成,产物稀释至 100 μL 用于 qRT-PCR 分析。

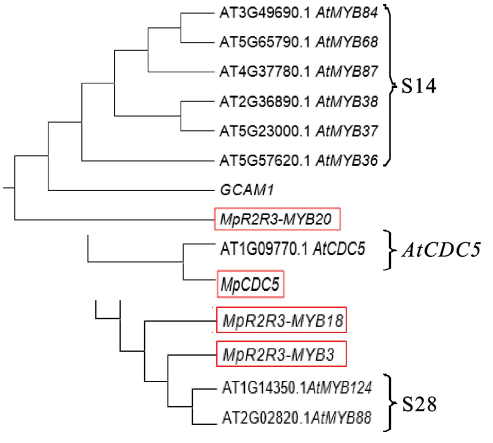
实时定量 PCR 使用试剂为 Vazyme 公司的 ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix (Vazyme,货号 Q711),PCR 总体积为 20 μL,每个样品设置 3 个技术重复,使用 *MpEF1a* 基因作为内参进行对比分析。qRT-PCR 反应程序为:95 ℃预变性 2 min,45 个循环(95 ℃变性 5 s,对应退火温度 30 s),最后添加 1 次溶解曲线分析。

1.2.6　数据处理　使用 *MpEF1a* 作为内参基因,组织特异性试验以 Tak-1(雄性)为材料。计算相对表达量时,将每组中表达量最低的样品表达量设为"1"。不同激素处理以 Tak-2(雌性)为材料,使用 *MpEF1a* 作为内参基因对 6 个目的基因进行 qRT-PCR 分析,对照组表达量设为"1"。使用 Spss 软件中的 Duncan's 分析法进行显著性分析。

2　结果与分析

2.1　地钱中 S14、S28 亚家族和 *AtCDC5* 同源基因的确定

使用 MEGA 7 软件将地钱 MYB 与拟南芥 MYB 亚家族 S14、S28 以及 *AtCDC5* 基因的氨基酸序列共同构建系统进化树,结果见图 2,确定 *MpR2R3-MYB20* 为 S14 同源基因,S28 的同源基因则有 *MpR2R3-MYB18* 和 *MpR2R3-MYB3*,*AtCDC5* 同源基因为 *MpCDC5*(GCAM1 已有研究,主要功能是调控胞芽杯的发育[12])。这与 Bowman 等[4]的结果基本一致,但缺少 S14 亚家族的 *MpR2R3-MYB8* 和 S28 亚家族的 *MpR2R3-MYB16*,推测可能与选取的 *MYB* 基因数目及构建系统树参数的差异有关。由于这两个基因可能与其他的 S14 和 28 亚家族基因功能相似,因此在试验中同时对它们进行分析。



红框为所选基因　Red frames represent selected genes

图 2　拟南芥 MYB 亚家族 S14、S28 和 *AtCDC5* 基因与地钱同源基因的系统进化树

Fig. 2　Phylogenetic tree of subfamily 14,28 and *AtCDC5* MYB genes in *Arabidopsis thaliana* and their homologs in *Marchantia polymorpha*

2.2　6 个基因时空表达结果

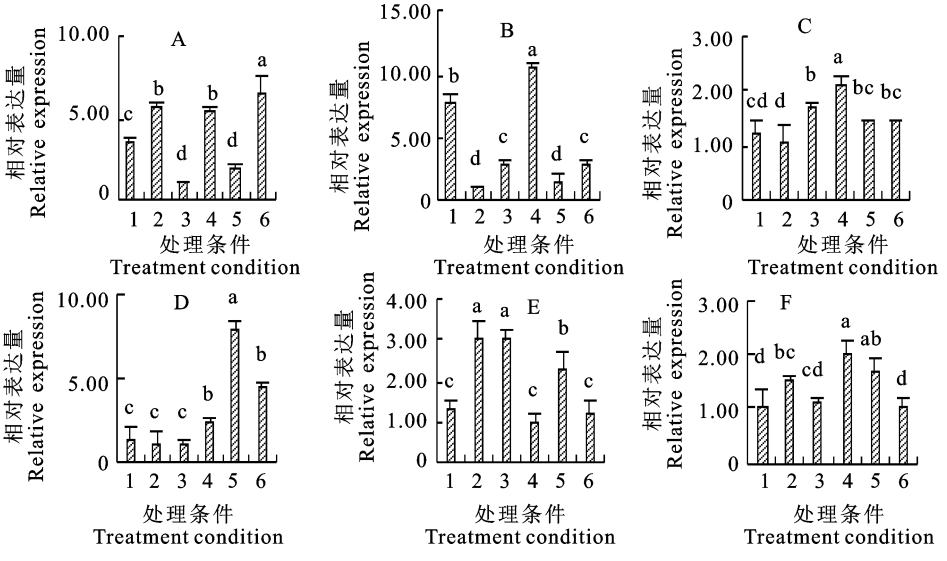
6 个基因时空表达结果（图 3）显示，*MpR2R3-MYB20* 在胞芽中表达量最高，而胞芽杯表达量却较低，就 2 周结果而言，其分生区与中脊表达量较高，而全株却远低于前两者，推测此基因在叶状体中表达量低；*MpR2R3-MYB8* 在 2 周与 3 周的分生区中高表达；*MpR2R3-MYB18* 在胞芽杯中表达量最高，胞芽次之。基因 *MpR2R3-MYB16* 在全株以及中脊表达量较高，表明其可能在叶状体中高表达。相较于其他基因而言，*MpR2R3-MYB3* 与 *MpCDC5* 的时空表达差异性较小，主要在 3 周左右的分生区中高表达。

2.3　激素处理后地钱生长表型变化

对地钱进行 IAA 和 ABA 两种植物激素处理，处理后的生长变化如图 4 所示。通过对每个培养皿平均约 20 至 25 个地钱的面积进行测量，得出对照组每个地钱样品平均面积约为 0.95 cm^2 ± 0.24 cm^2，0.1 μmol/L IAA 处理下平均面积约为 0.97 cm^2 ± 0.30 cm^2，0.5 μmol/L IAA 处理下平均面积约为 0.95 cm^2 ± 0.32 cm^2，但 IAA 处理下地钱的假根明显增多，且随着 IAA 浓度增加，假根数量也随之增加。在 20 μmol/L ABA 处理下，地钱样品平均面积约为 0.16 cm^2 ±0.02 cm^2，仅为对照组的 16.8%，地钱生长状态受到明显抑制，假根数量无明显变化。

2.4　激素处理 qRT-PCR 结果分析

如图 5 所示，*MpR2R3-MYB20* 在 0.1 μmol/L IAA 处理下表达量显著升高，其表达量相较于对照组上调 7.89 倍，其他处理差异不显著；*MpR2R3-MYB8* 在两种激素处理下表达量均出现小幅下调；*MpR2R3-MYB3* 在 IAA 处理下显著下调，0.1 μmol/L IAA 处理相比 0.5 μmol/L IAA 处理下调幅度更大，但在 20 μmol/L ABA 处理下下降不显著；*MpR2R3-MYB18* 在 20 μmol/L ABA 处理下出现显著上调。*MpR2R3-MYB16* 在 0.5 μmol/L IAA 与 20 μmol/L ABA 处理下与对照组相比显著下调，而在 0.1 μmol/L IAA 处理下表达量显著上调；*MpCDC5* 在 IAA 处理下下调显著，而在 ABA 处理下变化不显著。

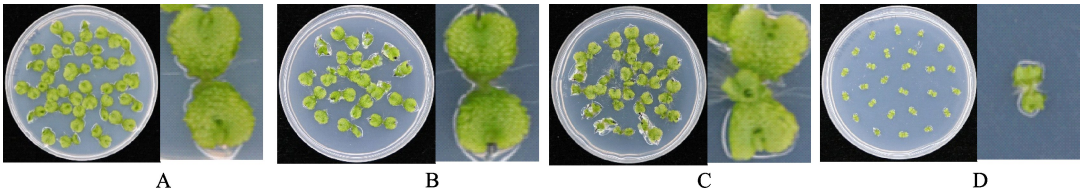


A. *MpR2R3-MYB20*；B. *MpR2R3-MYB8*；C. *MpR2R3-MYB3*；D. *MpR2R3-MYB18*；E. *MpR2R3-MYB16*；F. *MpCDC5*；1. 2 周分生区；2. 2 周中脊；3. 2 周全株；4. 3 周分生区；5. 3 周胞芽杯；6. 3 周胞芽。上标不同字母表示差异显著（$P \leqslant 0.05$）

A. *MpR2R3-MYB20*; B. *MpR2R3-MYB8*; C. *MpR2R3-MYB3*; D. *MpR2R3-MYB18*; E. *MpR2R3-MYB16*; F. *MpCDC5*; 1. Meristem, 2 weeks; 2. Midrib, 2 weeks; 3. Whole plant, 2 weeks; 4. Meristem, 3 weeks; 5. Gemma cup, 3 weeks; 6. Gemma, 3 weeks. The letters on the bar indicate statistical difference ($P \leqslant 0.05$)

图 3　地钱（Tak-1）中 S14、S28 亚家族和 *AtCDC5* 同源基因在不同时期和组织的表达量变化

Fig. 3　Expression level of S14, S28 subfamily and *AtCDC5* homologous *MYB* genes at various developmental stages and tissues of *Marchantia polymorpha* (Tak-1)

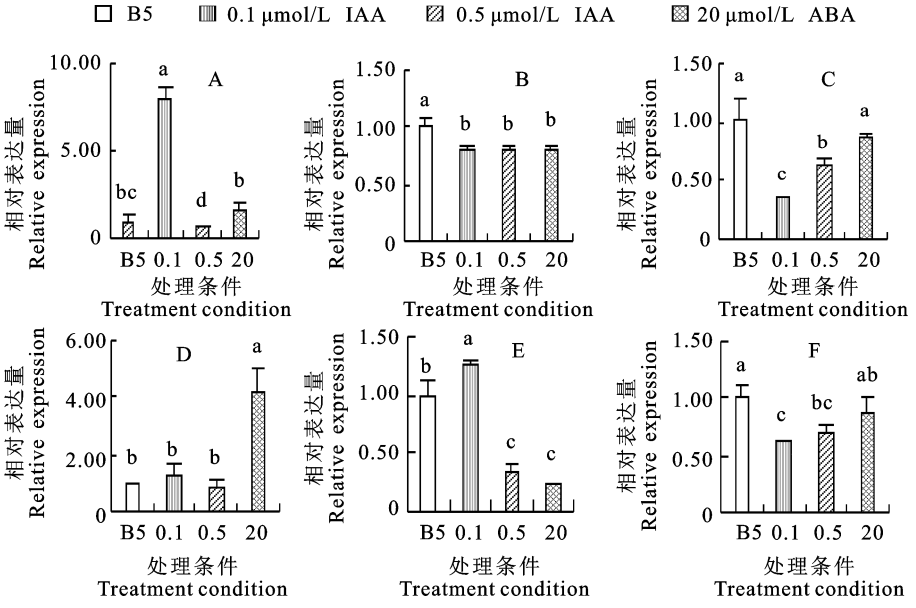


A. 无处理对照组；B. 0.1 μmol/L IAA 处理组；C. 0.5 μmol/L IAA 处理组；D. 20 μmol/L ABA 处理组

A. Control；B. 0.1 μmol/L IAA；C. 0.5 μmol/L IAA；D. 20 μmol/L ABA

图 4　地钱(Tak-2)不同处理及对照组 2 周生长状态对比

Fig. 4　Comparison of 2-week-old tak-2 plants with and without ABA or IAA treatment



A. *MpR2R3-MYB20*；B. *MpR2R3-MYB8*；C. *MpR2R3-MYB3*；D. *MpR2R3-MYB18*；E. *MpR2R3-MYB16*；F. *MpCDC5*。上标不同字母表示差异显著($P \leqslant 0.05$)

A. *MpR2R3-MYB20*；B. *MpR2R3-MYB8*；C. *MpR2R3-MYB3*；D. *MpR2R3-MYB18*；E. *MpR2R3-MYB16*；F. *MpCDC5*. The letters on the bar indicate statistical difference($P \leqslant 0.05$)

图 5　地钱(Tak-2)中 S14、S28 亚家族和*AtCDC5* 同源基因在 IAA 和 ABA 处理后的表达变化

Fig. 5　Expression level of S14, S28 subfamily and *AtCDC5 MYB* homologous genes in *Marchantia polymorpha* (Tak-2) after treatment with ABA or auxin

3　讨 论

与藻类相比，地钱演化出陆地生活所需的气体交换、固着以及繁衍的一些基本组织结构和功能，被认为是最为原始的陆生植物，其基因组也处于一种“原始”状态。在之后的进化历程中出现的陆生植物大多经过全基因组倍增或多倍化过程，使这些结构和功能变得更为精细和完善。通过同源序列法寻找高等植物中控制相应结构和功能形成的相关基因在地钱中的同源基因，对这些基因在地钱中进行时空表达分析，能推测其在地钱中的作用，为阐释植物登陆的机制提供线索。

通过对 *MpR2R3-MYB8* 与 *MpR2R3-MYB20* 表达模式比较发现，虽然两者都是 S14 和 *GCAM1* 的同源基因，但表达模式却有较大差别。与 *GCAM1* 的亲源关系相对较远的 *MpR2R3-MYB8* 在分生区中高表达，而在 2 周的中脊表达最低，且受 IAA 和 ABA 的影响较小，而中脊正是地钱周期性形成胞芽杯的部位，因此推测其可能与胞芽杯的发育关系不大，具体功能有待进一步研究。与*GCAM1* 的亲源关系较近的 *MpR2R3-MYB20*，在胞芽、分生区和中脊表达量较高，与 *GCAM1* 的 GUS 染色得出的表达模式基本一致[12]，二者很可能功能冗余的调控胞芽杯的发育。另外，*MpR2R3-MYB20* 受到 0.1 μmol/L IAA 诱导大幅上调，且在分生区较高表达，所以

推测其功能与分生区细胞增殖有关。

拟南芥 S28 亚家族中的 MYB124 和 MYB88 通过抑制细胞周期蛋白 CYCA2s 来调节保卫细胞的分化[19]。在 S28 亚家族的同源基因中，*MpR2R3-MYB3* 在分生区高表达外，在全株中也有较高表达，这表明 *MpR2R3-MYB3* 可能在分生区和中脊以外的叶状体部位有较高的表达，而 *MpR2R3-MYB16* 在叶状体中的表达也较高，这两个基因很有可能通过调控细胞周期蛋白来参与地钱气腔的形成。此外，在 ABA 处理下 *MpR2R3-MYB16* 表达水平出现大幅下降，推测其可能与 S28 亚家族的抗干旱寒冷胁迫类似[9]，在胁迫条件下出现与 ABA 协同调节气腔导度，而 *MpR2R3-MYB16* 在 0.1 μmol/L IAA 处理下显著上调，表明其功能可能与地钱发育相关。*MpR2R3-MYB18* 在胞芽杯和胞芽中高表达，且受到 ABA 诱导上调最为明显，推测 *MpR2R3-MYB18* 可能与地钱适应陆地生活有关。此外，鉴于拟南芥中 S28 亚家族与细胞周期的关系以及 ABA 能调控胞芽杯的休眠，据此推测 *MpR2R3-MYB18* 可能通过 ABA 信号途径调控了胞芽杯与胞芽形成的起始过程。

MpCDC5 在 3 周分生区表达最高，低浓度 IAA 处理后表达量显著下调。*MpCDC5* 基因在拟南芥中的同源基因 *AtCDC5* 具有调控分生区细胞循环 G2 期到 M 期过渡的作用[20-21]，因此推测 *MpCDC5* 可能参与促进了分生区的形成，并且在 IAA 处理下出现下调以维持分生区稳定。

本试验通过对地钱中部分 MYB 基因在不同情况下表达量的差异进行分析，为日后在地钱中研究相关基因的功能进行铺垫，为进一步研究植物进化过程中适应陆地环境的机制提供思路。

参考文献 Reference:

[1] 牛义岭，姜秀明，许向阳. 植物转录因子 MYB 基因家族的研究进展[J]. 分子植物育种，2016，14(8)：2050-2059.
NIU Y L，JIANG X M，XU X Y. Reaserch advances on transcription factor MYB gene family in plant[J]. *Molecular Plant Breeding*，2016，14(8)：2050-2059.

[2] STRACKE R，WERBER M，WEISSHAAR B. The R2R3-MYB gene family in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Current Opinion in Plant Biology*，2001，4(5)：447-456.

[3] 李 鹏，李平凤，黎 里，等. 地钱属植物研究进展[J]. 大众科技，2017，19(10)：47-49.
LI P，LI P F，LI L，*et al*. Advances in research of *Marchantia*[J]. *Popular Science & Technology*，2017，19(10)：47-49.

[4] BOWMAN J L，KOHCHI T，YAMATO K T，*et al*. Insights into land plant evolution garnered from the *Marchantia polymorpha* genome[J]. *Cell*，2017，171(2)：287-304.

[5] KIMITSUNE I，RYUICHI N，YAMATO K，*et al*. Molecular genetic tools and techniques for *Marchantia polymorpha* research[J]. *Plant & Cell Physiology*，2015，57(2)：262-270.

[6] PETERSON K M，RYCHEL A L，TORII K U. Out of the mouths of plants：the molecular basis of the evolution and diversity of stomatal development[J]. *The Plant Cell*，2010，22(2)：296-306.

[7] 罗丹丹，王传宽，金 鹰. 植物应对干旱胁迫的气孔调节[J]. 应用生态学报，2019，30(12)：4333-4343.
LUO D D，WANG CH K，JIN Y. Stomatal regulation of plants in response to drought stress[J]. *Chinese Jorunal of Applied Ecology*，2019，30(12)：4333-4343.

[8] LAI L B，NADEAU J A，LUCAS J R，*et al*. The *Arabidopsis* R2R3 MYB proteins FOUR LIPS and MYB88 restrict divisions late in the stomatal cell lineage[J]. *The Plant Cell*，2005，17(10)：2754-2767.

[9] GENG D，CHEN P，SHEN X，*et al*. MdMYB88 and MdMYB124 enhance drought tolerance by modulating root vessels and cell walls in apple[J]. *Plant Physiology*，2018，178(3)：1296-1309.

[10] KELLER T，ABBOTT J，MORITZ T，*et al*. *Arabidopsis* regulator of axillary meristems 1 controls a leaf axil stem cell niche and modulates vegetative development[J]. *The Plant Cell*，2006，18(3)：598-611.

[11] MULLER D，SCHMITZ G，THERES K. Blind homologous R2R3 Myb genes control the pattern of lateral meristem initiation in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*，2006，18(3)：586-597.

[12] YASUI Y，TSUKAMOTO S，SUGAYA T，*et al*. Gemma cup-associated MYB1，an ortholog of axillary meristem regulators，is essential in vegetative reproduction in *Marchantia polymorpha*[J]. *Current Biology*，2019，29(23)：3987.

[13] FLORES-SANDOVAL E，ROMANI F，BOWMAN J. Co-expression and transcriptome analysis of *Marchantia polymorpha* transcription actors supports class *C ARFs* as independent actors of an ancient auxin regulatory module[J]. *Frontiers in Plant Science*，2018，9：1345.

[14] EKLUND D M，KANEI M，FLORES-SANDOVAL E，*et al*. An evolutionarily conserved abscisic acid signaling pathway regulates dormancy in the liverwort *Marchantia polymorpha*[J]. *Current Biology*，2018，28(22)：3691-3699.

[15] 童 超. ABA 生理功能与信号转导相关综述[J]. 科技资讯，2008(10)：44-45.
TONG CH. A review of ABA physiological functions and signal transduction[J]. *Science & Technology Information*，2008(10)：44-45.

[16] 刘 艳，曹 同，陈静文. 有前景的模式植物小立碗藓的研究新进展[J]. 广西植物，2007，27(1)：90-94.
LIU Y，CAO T，CHEN J W. Advances on the study of the moss *Physcomitrella patens*，a potential model plant[J]. *Guihaia*，2007，27(1)：90-94.

[17] EKLUND D M, ISHIZAKI K, FLORES-SANDOVAL E, *et al*. Auxin produced by the indole-3-pyruvic acid pathway regulates development and gemmae dormancy in the liverwort *Marchantia polymorpha*[J]. *The Plant Cell*, 2015, 27(6): 1650-1669.

[18] ISHIZAKI K, NONOMURA M, KATO H, *et al*. Visualization of auxin-mediated transcriptional activation using a common auxin-responsive reporter system in the liverwort *Marchantia polymorpha*[J]. *Journal of Plant Research*, 2012, 125(5): 643-651.

[19] VANNESTE S, COPPENS F, LEE E, *et al*. Developmental regulation of CYCA2s contributes to tissue-specific proliferation in *Arabidopsis*[J]. *Embo Journal*, 2011, 30(16): 3430-3441.

[20] LIN Z, YIN K, ZHU D, *et al*. AtCDC5 regulates the G2 to M transition of the cell cycle and is critical for the function of *Arabidopsis* shoot apical meristem[J]. *Cell Research*, 2007, 17(9): 815-828.

[21] 徐金龙,梁　爽,郁　飞. 拟南芥细胞周期基因 *AtCDC5* 的功能研究及抗体制备[J]. 江苏农业学报, 2019, 35(1): 26-32.
XU J L, LIANG SH, YU F. Functional research and antibody preparation of *Arabidopsis thaliana* cell cycle gene *AtCDC5*[J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2019, 35(1): 26-32.

Analysis of Expression Pattern of Some Liverwort *MYB* Genes at Various Developmental Stages, Different Tissues and Their Responses to Plant Hormone Treatments

GAO Xudong[1], FU Jing[1] and CUI Hongchang[1,2]

(1. Collage of Life Sciences, Northwest A&F University, Yangling Shaanxi　712100, China;
2. Department of Biological Science, Florida State University, Tallahassee Florida　32306, USA)

Abstract　To elucidate the mechanisms that enable plants to adapt to a terrestrial environment, this study determined the expression level of some *MYB* genes in *Marchantia polymorpha* of a primitive land plant in different tissues at various developmental stages and after the plants were treated with several plant hormones. A phylogenetic tree was constructed to identify liverwort homologs to *Arabidopsis thaliana* MYB transcription factors in the S14, S28 subfamilies and *AtCDC5*. The expression level of these genes in different tissues and developmental stages, before and after treatment with auxin and ABA, were compared by using real-time quantitative PCR. *MpR2R3-MYB20* had the highest and lowest expression in gemma and gemma cup, respectively, and it was significantly up-regulated under 0.1 μmol/L IAA. *MpR2R3-MYB8* was expressed highly in meristem zone, which had little change under hormone treatments. *MpR2R3-MYB3* and *MpCDC5* were highly expressed in the meristem, but down-regulated under IAA treatment. *MpR2R3-MYB18* was mainly expressed in gemma and gemma cup and up-regulated by ABA. *MpR2R3-MYB16* detectable in the whole plant showed a high level of expression under 0.1 μmol/L IAA treatment, but it was at lower level under other treatments. These results suggested that the above-described genes had important roles in the growth, development and stress responses in different organs or tissues.

Key words　*Marchantia polymorpha* L; MYB transcription factor; Abiotic stress; IAA; ABA

Received　2020-05-22　　**Returned**　2020-07-12

Foundation item　The National Natural Science Foundation of China (No. 31871493).

First author　GAO Xudong, male, master student. Research area: plant genetics and development. E-mail: 806834003@qq.com

Corresponding author　CUI Hongchang, male, professor, doctoral supervisor. Research area: plant genetics and development. E-mail: hcui@bio.fsu.edu

(责任编辑:郭柏寿　**Responsible editor: GUO Baishou**)