

**ORIGINAL ARTICLE**

# Genome-wide bioinformatic analysis of MYB gene family in monocotyledons and dicotyledons

Sara Dezhsetan<sup>1\*</sup>, Parivash Nezami Anbaran<sup>1</sup>, Mahdi Behnamian<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Plant Production & Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

<sup>2</sup>Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

**Correspondence**

Sara Dezhsetan

Email: [sdezhsetan@uma.ac.ir](mailto:sdezhsetan@uma.ac.ir)

**How to cite**

Dezhsetan, S., Nezami Anbaran, P., & Behnamian, M. (2023). Genome-wide Bioinformatic Analysis of MYB Gene Family in Monocotyledons and Dicotyledons. *Crop Biotechnology*, 13(44), 13-29.

## ABSTRACT

The MYB transcription factor superfamily has a fundamental role in plant growth and development, activation of stress-responsive genes, and in some cases biosynthesis of key metabolites. The availability of potato, Arabidopsis (dicotyledonous), maize and barley (monocotyledonous) genome sequences provided the opportunity to identify 121, 139, 190 and 144 non-redundant MYB genes in these lineages, respectively. In the study of the evolutionary characteristics of MYB conserved domains in two monocotyledonous plants, corn and barley, they were remarkably similar to each other in terms of alignment and order of placement. This characteristic was also true in relation to two dicotyledonous plants, potato and Arabidopsis, but the difference between MYB conserved domains in monocots and dicots was significant. In other words, it seems that despite the similarity of MYB genes in monocots and dicots, this gene family in the evolution in monocots and dicots have derived from each other. The 2R-MYB members were the most common subgroup of the MYB family in monocots and dicots and only one member of the 4R-MYB subfamily was observed in maize. In all four plants, the main reason for the functional differentiation of genes in this gene family was segmental duplication that has led to positive and purifying evolutionary selection. MYB gene family was located on all chromosomes of potato, Arabidopsis, maize and barley with non-uniform distribution. The expression pattern of AT1G57560, AT2G47190, AT3G23250 and AT1G56650 genes changed in more than one test of abiotic stress and hormonal response. Also, the expression pattern of AT1G74080, AT4G12350, AT4G22680, AT2G47190, AT1G48000, AT2G39880, AT5G40330 and AT5G16600 genes changed in more than one biotic stress test. On the other hand, the expression pattern of the AT2G47190 gene showed increased expression in several biotic and abiotic stresses. The presence of diverse and numerous regulatory Cis elements in response to stresses and hormones in the promoter region of MYB genes and the investigation of the expression profiles of this gene family in biotic and abiotic stresses in Arabidopsis indicates the functional diversity of the genes of this superfamily. *In silico* investigation of MYB gene superfamily in monocots and dicots provides a framework for comparative, evolutionary and functional studies of the members of this important gene superfamily.

## KEY WORDS

dicot, gene expression profile, monocot and transcription factors

نشریه علمی

## زیست فناوری گیاهان زراعی

«مقاله پژوهشی»

# آنالیز بیوانفورماتیکی خانواده ژنی MYB در گستره ژنوم تک‌لپه‌ای‌ها و دولپه‌ای‌ها

سارا دژستان<sup>۱\*</sup>، پریش نظامی عنبران<sup>۱</sup>، مهدی بهنامیان<sup>۲</sup>

### چکیده

اگرچه خانواده عامل رونویسی MYB در رشد و نمو گیاه، فعال‌سازی ژن‌های پاسخ‌دهنده به تنش و در مواردی بیوسنتز متابولیت‌های کلیدی نقشی اساس دارند. در دسترس بودن توالی‌های ژنومی سیب‌زمینی، آراییدوپسیس، ذرت و جو این فرصت را فراهم کرد تا به ترتیب ۱۲۱، ۱۳۹، ۱۹۰ و ۱۴۴ ژن MYB غیرتکراری در ژنوم این گیاهان شناسایی شود. در بررسی خصوصیات تکاملی، دامنه‌های حفاظت‌شده‌ی MYB در دو گیاه تک‌لپه‌ای ذرت و جو از نظر هم‌ردیفی و ترتیب قرار گرفتن، شباهت چشمگیری با یکدیگر داشتند. این خصوصیت در رابطه با دو گیاه دولپه‌ای سیب‌زمینی و آراییدوپسیس نیز صادق بود ولی تفاوت دامنه‌های حفاظت‌شده‌ی MYB در تک‌لپه‌ای‌ها و دولپه‌ای‌ها قابل توجه بود. اعضای 2R-MYB رایج‌ترین زیرگروه از خانواده‌ی MYB در گیاهان تک‌لپه‌ای و دولپه‌ای بودند و فقط یک عضو از زیرخانواده 4R-MYB در ذرت مشاهده شد. در هر چهار گیاه دلیل اصلی تمایز عملکردی ژن‌ها در این خانواده‌ی ژنی segmental duplication بود که منجر به گزینش تکاملی مثبت و منفی گردیده است. خانواده‌ی MYB روی تمامی کروموزوم‌های سیب‌زمینی، آراییدوپسیس، ذرت و جو با پراکنش غیریکنواخت قرار گرفته‌اند. وجود عناصر تنظیمی همسو متنوع و متعدد پاسخ به تنش‌ها و هورمون‌ها در ناحیه‌ی راه‌انداز ژن‌های MYB و بررسی پروفایل‌های بیانی این خانواده ژنی در تنش‌های زیستی و غیرزیستی در آراییدوپسیس دلالت بر تنوع کارکردی ژن‌های این ابرخانواده دارد. بررسی بیوانفورماتیکی ابرخانواده ژنی MYB در تک‌لپه‌ای‌ها و دولپه‌ای‌ها چارچوبی برای مطالعات مقایسه‌ای، تکاملی و عملکردی اعضای این ابرخانواده‌ی ژنی مهم فراهم می‌کند.

### واژه‌های کلیدی

پروفایل بیان ژن، تک‌لپه‌ای، دولپه‌ای، عوامل رونویسی

<sup>۱</sup>گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.  
<sup>۲</sup>گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

نویسنده مسئول:

سارا دژستان

رایانامه: sdezhsetan@uma.ac.ir

استاد به این مقاله:

دژستان، سارا، نظامی عنبران، پریش و بهنامیان، مهدی (۱۴۰۲). آنالیز بیوانفورماتیکی خانواده ژنی MYB در گستره ژنوم تک‌لپه‌ای‌ها و دولپه‌ای‌ها. فصلنامه علمی زیست فناوری گیاهان زراعی، ۱۳(۴۴)، ۱۳-۲۹.

رونویسی را تشکیل می‌دهند و آن‌ها نیز به عنوان عوامل رونویسی طبقه‌بندی می‌شوند. برای مثال عوامل رونویسی انگشت‌روی B-BOX، خانواده AUX/IAA و خانواده پروتئینی JAZ از این نوع پروتئین‌ها هستند (Gangappa & Botto, 2014).

### پیشینه پژوهش

خانواده عوامل رونویسی MYB از متنوع‌ترین گروه‌های پروتئینی متصل‌شونده به DNA محسوب می‌شوند که در تنظیم رونویسی ژن‌های گیاهی دخالت دارند (Jin & Martin, 1999). پروتئین‌های میلوبلاستوز (MYB) برای اولین بار در ویروس میلوبلاستوز پرندگان (AMV) شناسایی شدند (Klemppner *et al.*, 1982). خانواده پروتئینی MYB در همه گیاهان یافت شده است (Lipsick, 1996). عوامل رونویسی MYB حاوی یک DBD حفاظت‌شده (دامنه اتصال به DNA) هستند که به طور کلی از ۱ تا ۴ تکرار ناقص تشکیل شده‌اند که این تکرارها R نامیده می‌شوند (Lipsick, 1996; Dubos *et al.*, 2010). هر تکرار R شامل ۵۰ تا ۵۵ اسید آمینه در طول خود می‌باشد که سه ماریچ  $\alpha$  را تشکیل می‌دهند. ماریچ‌های  $\alpha$  هنگامی که به ناحیه خاص راه‌انداز ژن هدف متصل می‌شوند تشکیل می‌گردند (Lipsick, 1996; Ogata *et al.*, 1994).

خانواده عوامل رونویسی MYB براساس تعداد تکرارهای موجود در هر پروتئین به چهار زیرخانواده شامل 1R-MYB (MYB-related)، 2R-MYB (R2R3-MYB)، 3R-MYB (R1R2R3-MYB) و 4R-MYB گروه‌بندی می‌شوند. پروتئین‌های 4R-MYB کوچک‌ترین عضو این گروه هستند که هر ژن در این گروه حاوی چهار تکرار R1/R2 می‌باشد و در گیاهان این گروه از پروتئین‌ها کمتر شناخته شده‌اند (Dubos *et al.*, 1994; Ogata *et al.*, 2010). خانواده ژنی 1R-MYB (MYB-related) حاوی یک تکرار ناقص یا منفرد از MYB، خانواده‌ی ژنی 2R-MYB دارای دو تکرار مجاور و 3R-MYB حاوی سه تکرار مجاور هستند. اعضای 2R-MYB رایج‌ترین زیرگروه از خانواده MYB هستند که در گیاهان یافت می‌شوند درحالی‌که در حیوانات پروتئین‌های 3R-MYB گروه غالب هستند (Dubos *et al.*, 2010). پیشنهاد شده است که ژن‌های 2R-MYB احتمالاً از اجداد R1R2R3-MYB در اثر از دست دادن تکرار R1 تکامل پیدا کرده‌اند. با این حال، بسیاری از گزارش‌ها نشان می‌دهد که ژن‌های 3R-MYB از ژن‌های 2R-

### مقدمه

امروزه امنیت غذایی جهان با چالش بزرگی مواجه است که به طور مداوم با افزایش سریع جمعیت و تغییرات شدید آب و هوا نشان داده شده است. این امنیت غذایی عمدتاً به بخش کشاورزی و به‌ویژه تولید محصولات کشاورزی ارتباط دارد. بهره‌وری کشاورزی با تنش‌های مختلفی مواجه است که ممکن است در مورد تنش‌های غیرزیستی ۵۰ تا ۷۰ درصد و در مورد تنش‌های زیستی ۴۰ تا ۶۰ درصد تلفات ایجاد کند (Tiwari *et al.*, 2020). رایج‌ترین تنش‌های غیرزیستی شامل شوری، خشکی، سیل، تنش‌های شدید دما و غیره هستند، در حالی که باکتری‌ها، ویروس‌ها و قارچ‌ها تنش‌های زیستی می‌باشند. پیشرفت در ژنتیک و زیست‌شناسی مولکولی منجر به توسعه فناوری توالی‌یابی با توان بالا شده است. در نتیجه، گیاه‌شناسان توانستند ژن‌ها و مناطق ژنتیکی مرتبط با صفات موردتوجه را شناسایی کنند. طی سال‌ها، این ژن‌ها و اطلاعات ژنتیکی با موفقیت برای بهبود محصول از نظر عملکرد، ایجاد مقاومت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی مورد استفاده قرار گرفته است.

گیاهان مکانیسم‌های پیچیده‌ای را در سطوح مختلف برای افزایش تحمل و سازگاری با شرایط نامطلوب ایجاد کرده‌اند. شناسایی نشانه‌های تنش و انتقال پیام‌ها برای فعال کردن پاسخ‌های سازگار و تنظیم ژن‌های مرتبط با تنش، گام‌های کلیدی برای تحمل تنش‌های گیاهی می‌باشد (Matsui *et al.*, 2008). القای ژن‌های مرتبط با تنش عمدتاً در سطح رونویسی رخ می‌دهد و اصلاح الگوهای بیان زمانی و مکانی ژن‌های خاص مرتبط با تنش بخش مهمی از پاسخ به تنش در گیاه است (Rushton & Somssich, 1998).

عوامل رونویسی طیف گسترده‌ای از مکانیسم‌های دفاعی را در گیاهان در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی فعال می‌کنند. شناسایی اعضای خانواده‌های عوامل رونویسی گامی موثر برای شناخت ژن‌های دخیل در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌باشد و البته با شناخت هر چه بیشتر آن‌ها می‌توان به اصلاح و مقاوم‌سازی گیاهان زراعی در برابر تنش‌ها کمک موثری نمود (Century *et al.*, 2008). عوامل رونویسی پروتئین‌هایی هستند که توالی‌های اختصاصی DNA در راه‌اندازها را شناسایی می‌کنند. هر چند که پروتئین‌هایی به نام پروتئین‌های تنظیمی فاقد نواحی اتصال به DNA نیز وجود دارند که مستقیماً با عوامل رونویسی متصل‌شونده به DNA برهمکنش داشته و کمپلکس‌های

رونویسی 2R-MYB متعددی در گیاهانی مانند برنج (Yanhui et al., 2006)، ذرت (Du et al., 2012)، کلزا (Hajiebrahimi et al., 2017) و گیاهان باغبانی گل اطلسی (Chen et al., 2021) و توت‌فرنگی (Liu et al., 2021) شناسایی و از نظر عملکردی آنالیز شده‌اند.

در سیب‌زمینی ژن‌های MYB نقش حیاتی در تنظیم سنتز متابولیت‌های ثانویه گیاهی مانند فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها (Mehrtens et al., 2005; Paz-Ares et al., 1987; Stracke et al., 2007) و ایجاد مقاومت در برابر تنش غیرزیستی (Yao et al., 2016) دارند. در ژنوم ذرت، بیان ZmMYB30 به‌طور قابل‌توجهی در شرایط خشکی و شوری بالا افزایش یافته است (Chen et al., 2018). همچنین افزایش بیان ZmMYB-IF35 در لاین M54 ذرت مقاوم به سرما گزارش گردید. در گیاهان تراریخته آرابیدوپسیس با بیان بیش از حد ZmMYB-IF35 تحمل سرما بهبود بخشیده شد، فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی بالاتر، سطوح کمتر گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و نشت یونی کمتر مشاهده شد (Yang et al., 2012). تجزیه و تحلیل الگوهای بیانی ۴۶ ژن ZmMYB تحت تنش غیرزیستی مختلف نشان داد که ۲۲ ژن به تیمارهای تنش متفاوت پاسخ دادند. ژن ZmMYB30 تحت چهار تنش به‌شدت افزایش بیان نشان داد، اما ژن ZmMYB53 فقط در تنش سرما افزایش بیان نشان داد (Chen et al., 2018). مطالعه عملکرد عامل رونویسی HvMYB1 در جو نشان داد که بیان ژن در ریشه‌ها و برگ‌های جو نوع وحشی تحت تنش خشکی و اسمری تنظیم مثبت می‌شود. بیان بیش از حد ژن HvMYB1 در گیاهان جو تراریخته منجر به مقاومت بیشتر به خشکی در مقایسه با شاهد گردید، محتوای نسبی آب افزایش، سرعت اتلاف آب کاهش و هدایت روزنه‌ای کمتر شد (Alexander et al., 2019). ژن TaMYB31 به عنوان یک تنظیم‌کننده مثبت مقاومت به خشکی از طریق تنظیم مثبت ژن‌های بیوستنزکننده موم و ژن‌های پاسخ‌دهنده به خشکی عمل می‌کند (Zhao et al., 2018). عملکرد ژن‌های 2R-MYB‌ها در تنظیم مسیرهای بیوستنز فنیل-پروپانوئید، فلاونوئید و لیگنین به‌خوبی مورد مطالعه قرار گرفته است (Liu et al., 2015; Ma & Constabel, 2019). راه‌انداز ژن‌های CBF آرابیدوپسیس حاوی یک توالی شناسایی MYB هستند و می‌توانند توسط عوامل رونویسی MYB فعال شوند. بیان ژن ZmMYB31 (2R-MYB) در دمای پایین القا می‌شود که بیان بیش از حد این ژن در

MYB در اثر اکتساب تکرار R1 تکامل یافته‌اند (Jiang et al., 2004). زیرخانواده 2R-MYB بزرگترین زیرخانواده MYB است که برخی از اعضای آن در رشد و نمو گیاه و تنظیم متابولیک نقش دارند (Du et al., 2012; Liu et al., 2021; Stracke et al., 2001; J. Wang et al., 2020; N. Wang et al., 2020; Zhang et al., 2019)، که متابولیسم اولیه و ثانویه تنش‌های زیستی و غیرزیستی مختلف (Fang et al., 2017; Song et al., 2020) و سنتز هورمون و انتقال پیام را شامل می‌شود (Ke et al., 2021). اخیراً، افزایش دسترسی به توالی‌های ژنوم گیاهی، درک بهتر این خانواده ژنی بزرگ را آسان‌تر کرده است (Liu et al., 2021; J. Wang et al., 2019; N. Wang et al., 2020). در سال‌های اخیر، مطالعات بیشتری روی عوامل رونویسی 2R-MYB متمرکز شده است. اولین ژن گیاهی (C1) R3R3-MYB COLORED1 از گیاه ذرت (*Zea mays* L.) جداسازی شد که یک پروتئین تنظیمی دخیل در بیوستنز آنتوسیانین را رمزگذاری می‌کند (Paz-Ares et al., 1987). همچنین RCP1 از خانواده رونویسی 2R-MYB، رنگدانه‌های کاروتنوئیدی را در گل‌های *Mimulus lewisii* تنظیم می‌کند (Sagawa et al., 2016). در گوجه‌فرنگی، SIMYB72 با کاهش بیان ژن‌های فیتوئن سنتز (PSY)، cis-۱۵-کارتوتن ایزومراز (ZISO) و لیکوپین بتا سیکلاز (LCYB) بیوستنز کاروتنوئید را به‌طور منفی تنظیم می‌کند (Wu et al., 2020). در مرکبات، CrMYB68 مستقیماً با تنظیم بیان راه‌اندازهای CrBCH2 و CrNCED5، تبدیل آلفا و بتاکاروتن را سرکوب می‌کند (Zhu et al., 2017). ژن فرایبان‌شده AdMYB7 در کیوی راه‌انداز LCY-β را تنظیم مثبت می‌کند و محتوای رنگدانه کاروتنوئید و کلروفیل را افزایش می‌دهد (Ampomah-Dwamena et al., 2019).

به‌دلیل عملکرد قدرتمند ژن‌های MYB، تعداد فزاینده‌ای از ژن‌های MYB در سطح کل ژنوم بسیاری از گیاهان دولپه‌ای و تک‌لپه‌ای شناسایی شده‌اند. در گزارشات اخیر، به عنوان مثال ۱۹۷ ژن MYB در گیاه مدل *Arabidopsis thaliana* L.، ۱۵۵ ژن MYB در برنج (Katiyar et al., 2012)، ۱۰۸ ژن *R2R3 MYB* در انگور (Matus et al., 2008)، ۱۵۷ ژن *R2R3 MYB* در ذرت (Du et al., 2012)، ۱۸۵ ژن *R2R3 MYB* در گلابی سفید (Li et al., 2016) و ۵۲۴ ژن MYB در پنبه (Salih et al., 2016) شناسایی شدند. همچنین در سال‌های اخیر، عوامل

همچنین، برای تایید مجدد حضور دامنه‌های MYB در توالی‌ها از پایگاه اطلاع‌رسانی <http://smart.emblheidelberg.de/> استفاده گردید.

### دسته‌بندی خانواده ژنی MYB هر یک از گیاهان

برای تایید ژن‌های MYB شناسایی شده بر اساس MAST در سایت Ensembl Plant از پایگاه اطلاعاتی ITAK-Plant (<http://itak.feilab.net>) استفاده شد و ژن‌های MYB استخراج شده از سایت Ensembl Plant به ژن‌های خانواده MYB، MYB-related، GARP-G2-like، GARP-ARR-، B، Trihelix و ARID دسته‌بندی شدند و در نهایت برای ادامه‌ی پروژه فقط ژن‌های MYB و MYB-related جداسازی شدند.

### محاسبه duplicate gene و انواع آن

رویدادهای تکراری در ژن‌های MYB با همدریف کردن توالی‌های DNA رمزکننده (CDS) MYB از طریق نرم‌افزار CLUSTALW (<https://www.genome.jp/tools-bin/clustalw>) شناسایی شدند.

جفت ژن‌های تکراری با بیش از ۸۵ درصد تشابه به عنوان duplicate gene لحاظ شدند. بر اساس قرارگیری duplicate gene روی کروموزوم‌ها tandem duplication و segmental duplication مشخص شدند. توالی‌های tandem duplication روی یک کروموزوم قرار دارند و فاصله آن‌ها کمتر از ۱۰۰ kb است و segmental duplication توالی‌هایی هستند که روی یک کروموزوم با فاصله بیش از ۱۰۰ kb قرار دارند یا روی دو کروموزوم متفاوت واقع شده‌اند (Li et al., 2012).

### محاسبه میزان Ks و Kn

برای تخمین واگرایی MYB‌های همولوگ و فشار انتخابی بر ژن‌های تکراری، از نرم‌افزار MEGA برای محاسبه نرخ جایگزینی Ks (مترادف) و Kn (غیرمترادف) در هر سایت بین اعضای هر جفت ژن استفاده شد. سپس با استفاده از فرمول زیر نسبت Kn/Ks و Data Million Years Ago (MYA) برای هر ژن محاسبه شد و جدول مربوطه به دست آمد.

رابطه (۱) Lynch & Conery, 2000) MYA:  $[T = (Kn/2\lambda)] \times 10^{-6}$  ( $\lambda = 6.5 \times 10^{-9}$ )

آرابیدوپسیس، بیان ژن‌های CBF را افزایش داد و در نتیجه منجر به مقاومت گیاهان تراریخته آرابیدوپسیس در برابر دمای پایین و تنش اکسیداتیو گردید (M. Li et al., 2019). همچنین، اعضای عوامل رونویسی MYB R2R3 در آرابیدوپسیس چندین عملکرد متفاوت دارند. برخی از عوامل رونویسی MYB R2R3 قادر به تنظیم رشد و نمو گیاه هستند، به‌عنوان مثال، MYB7 و MYB70 جوانه‌زنی بذر را تنظیم می‌کنند (Kim et al., 2015; Wan et al., 2021).

در این پژوهش، به بررسی تعداد، طبقه‌بندی و مقایسه روابط خویشاوندی اعضای خانواده‌ی ژنی عوامل رونویسی MYB در گیاهان تک‌لپه‌ای (ذرت و جو) و گیاهان دولپه‌ای (سیب‌زمینی و آرابیدوپسیس)، مقایسه‌ی توالی‌های حفاظت شده اعضای خانواده ژنی عوامل رونویسی MYB گیاهان تک‌لپه‌ای و دو لپه‌ای، مقایسه ویژگی‌های راه‌اندازهای اعضای خانواده ژنی MYB گیاهان تک‌لپه‌ای و دو لپه‌ای و مطالعه نقش عملکردی اعضای خانواده ژنی عوامل رونویسی MYB در گیاه آرابیدوپسیس پرداخته شد.

### روش شناسی پژوهش

#### شناسایی ژن‌های خانواده MYB گیاهان مورد مطالعه

ژن‌های خانواده ژنی MYB دو گیاه تک‌لپه‌ای ذرت (*Zea mays* L.) و جو (*Hordeum vulgare* L.) و دو گیاه دولپه‌ای سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) و آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana* L.) با استفاده از پایگاه اطلاعاتی Ensembl Plant (<https://plants.ensembl.org>) جست‌وجو و شناسایی شدند.

#### شناسایی ژن‌های رمزکننده دامنه MYB

با استفاده از پایگاه اطلاعاتی MEME (<https://meme-suite.org>)، با استفاده از نرم‌افزار آنالین MEME، ۵ دامنه مشترک معنی‌دار توالی‌های پروتئینی MYB استخراج شده از پایگاه اطلاعاتی Ensembl Plant در هر گیاه شناسایی شدند و سپس با استفاده از نرم‌افزار آنالین MAST در پایگاه اطلاعاتی Ensembl Plants Genomes and Proteins پروتئین‌های دارای ۵ دامنه مشترک معنی‌دار با Evaluate کمتر از ۱۰<sup>-۵</sup> شناسایی شدند. توالی‌های تکراری نسخه‌های یک پروتئین و توالی‌های ناقص به‌صورت دستی حذف شدند.

سرما و گرما، پاسخ به هورمون‌های گیاهی و تنش‌های زیستی از پایگاه داده بیانی دانشگاه علوم و تکنولوژی Peking (<http://ipf.sustech.edu.cn/pub/soybean/>) داده‌های مربوط به ژن‌های MYB آراییدوپسیس استخراج گردید. اطلاعات مربوط به آزمایشات مذکور برای تنش‌های زیستی و غیرزیستی در جدول ۱ ذکر شده است. داده‌های بیانی FPKM دریافتی جهت نرمال‌سازی به  $\text{Log}_2(\text{FPKM}+0.1)$  تبدیل و سپس نقشه حرارتی با استفاده از نرم‌افزار TBtools رسم گردید (Chen *et al.*, 2020).

### یافته‌های پژوهش

#### شناسایی اعضای خانواده ژنی عوامل رونویسی MYB

در این پژوهش توالی‌های ژنی خانواده عوامل رونویسی MYB هر یک از گیاهان سیب‌زمینی، ذرت، جو و آراییدوپسیس در سایت Ensembl Plants جست‌وجو شدند که در مجموع به ترتیب ۲۲۴، ۳۲۱، ۲۰۴ و ۲۴۱ توالی احتمالی پروتئینی به‌عنوان اعضای خانواده ژنی MYB در این گیاهان مشخص شد و در انتها پس از تایید وجود و بررسی سطح معنی‌داری و بررسی مجدد این پروتئین‌ها در سایت iTAK-Plant، به ترتیب ۱۲۱، ۱۹۰، ۱۴۴ و ۱۳۹ توالی پروتئینی که دارای توالی کامل MYB بودند شناسایی شدند و توالی‌های تکراری، توالی‌های پروتئینی که دامنه MYB ناقص داشتند و یا به علت شباهت کاذب شناسایی شده بودند حذف شدند.

در این پژوهش، برای سهولت در خواندن نام توالی‌های گیاهان تغییراتی ایجاد شد، به این صورت که در سیب‌زمینی به جای PGSC0003DMT400 عبارت PGS، در ذرت به جای Zm00001eb عبارت Zm جایگذاری شد و در جو عبارت HORVU.MOREX.r3 کاملاً حذف شد (جدول‌های ۱، ۲، ۳ و ۴، [supplemental 1](#)).

#### همردیفی چندگانه و ترسیم درخت فیلوژنتیک

همردیفی توالی‌های پروتئینی MYB شناسایی‌شده با استفاده از Clustal Omega (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>) انجام شد. براساس داده‌های همردیف‌شده فایل درخت فیلوژنتیکی با استفاده از سایت IQ-TREE (<http://iqtree.cibiv.univie.ac.at/>) به دست آمد و با استفاده از نرم‌افزار آنالین iTOL (<https://itol.embl.de/>) درخت فیلوژنتیک ترسیم گردید.

#### ترسیم جایگاه کروموزومی ژن‌های MYB روی ژنوم

ژن‌های MYB شناسایی‌شده با استفاده از نرم‌افزار TBtools روی کروموزوم‌های سیب‌زمینی، ذرت، جو و آراییدوپسیس براساس موقعیت پیش‌بینی‌شده‌شان در Ensembl Plant نگاشت شدند.

#### آنالیز عوامل تنظیمی Cis ناحیه راه‌انداز ژن‌های MYB

به‌منظور شناسایی عوامل تنظیمی Cis (همسو) در ناحیه راه‌انداز ژن‌های MYB ۱۵۰۰ نوکلئوتید بالادست جایگاه شروع رونویسی (TSS) از پایگاه اطلاعاتی Ensembl Plants استخراج شدند. برای شناسایی عوامل تنظیمی Cis (همسو)، از پایگاه اطلاعاتی Plant CARE (<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) استفاده شد. سپس با استفاده از نرم‌افزار TBtools یک نقشه کلی از عناصر Cis (همسو) ناحیه راه‌انداز خانواده ژنی MYB در هر گیاه ترسیم شد.

#### آنالیز الگوی بیانی خانواده ژنی MYB گیاه

##### آراییدوپسیس

به‌منظور بررسی الگوی بیان ژن‌های MYB و درک کارکرد احتمالی آن‌ها در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی شامل شوری،

جدول ۱. شماره دسترسی و مشخصات آزمایش‌ها برای آنالیز بیان ژن‌های MYB در تنش‌های زیستی و غیرزیستی در آراییدوپسیس

NO	Accession number test	Characteristics assessed	Tissue	Reference
1	PRJNA295091	Salt and heat stress	leaves	(Suzuki <i>et al.</i> , 2016)
2	PRJNA354369	MeJA and BTH	seedlings	(Yang <i>et al.</i> , 2017)
3	PRJNA324514	Cold, heat and wounding	leaves	(Klepikova <i>et al.</i> , 2016)
4	PRJNA488799	Heat	whole plant	(Grinevich <i>et al.</i> , 2019)
5	PRJNA411947	Cold stress	cotyledon, hypocotyl, seed, flower and leaves	(Klepikova <i>et al.</i> , 2019)
6	PRJNA413141	<i>Verticillium dahliae</i>	roots and hyphae	(Scholz <i>et al.</i> , 2018)
7	PRJNA261035	<i>Vibrio vulnificus</i>	leaf	(Park <i>et al.</i> , 2019)
8	PRJNA326102	<i>Alternaria brassicicola</i>	rosette leaves	(Rausch, 2016)
9	PRJNA413057	<i>P. xylostella larvae</i>	leaves	--

## گروه‌بندی خانواده ژنی عوامل رونویسی MYB

عوامل رونویسی MYB گیاهان به ۴ زیرخانواده طبقه‌بندی شدند که این طبقه‌بندی شامل MYB-relate (1R-MYB)، R2R3- MYB (2R-MYB)، R1R2R3-MYB (3R-MYB) و 4R- MYB است که زیرخانواده 4R-MYB فقط در ذرت مشاهده شد. در این پژوهش به ترتیب در سیب‌زمینی ۲، ۱۱۶، ۳ و ۰ در ذرت ۱۲، ۱۷۳، ۴ و ۱، در جو ۴، ۱۳۵، ۵ و ۰ و در آرابیدوپسیس ۶، ۱۲۷، ۶ و ۰ MYB-relate (1R-MYB)، R2R3-MYB (2R-MYB)، R1R2R3-MYB (3R-MYB) و 4R-MYB شناسایی شد (جدول‌های ۱، ۲، ۳، ۴، [supplemental 1](#)) که اعضای 2R-MYB رایج‌ترین زیرگروه از خانواده MYB در گیاهان تک‌لپه‌ای و دولپه‌ای بودند.

## شناسایی و طبقه‌بندی duplicate gene

رویدادهای تکراری در ژن‌های MYB با هم‌ردیفی توالی‌های DNA رمزکننده (CDS) MYB از طریق نرم‌افزار CLUSTALW با استفاده از معیارهای ارزیابی دقیق E-value  $\leq 10^{-5}$  و  $\text{identity} > 80\%$  و  $\text{length of aligned sequences} > 80\%$  براساس روش کلونجر و همکاران (Clevenger *et al.*, 2016) انجام شد و تعداد ژن‌های تکراری در هر گیاه، tandem duplication و segmental duplication مشخص گردید. همچنین، CDS ژن‌هایی که به‌عنوان duplicate gene شناسایی شدند با استفاده از نرم‌افزار MEGA (نسخه 11.0.10) مجدداً هم‌ردیف شدند تا مقادیر Kn و Ks تعیین شوند. Kn/Ks (نسبت جایگزینی غیرمتراصف به مترادف) و Date (million years ago, MYA) محاسبه شد. مقدار Kn/Ks می‌تواند زمان وقوع تکرار ژن و فشار تکاملی روی ژن را نشان دهد. رویداد تکرار ژن عامل مهمی در تمایز عملکردی ژن‌ها در گونه است. براساس نقشه‌یابی ژن‌های تکراری روی کروموزوم‌ها هیچ tandem duplication شناسایی نشد. بنابراین، یک مسیر مهم برای تکثیر ژن‌های MYB در این گیاهان، segmental duplication است و دلیل اصلی تمایز عملکردی ژن‌ها می‌باشد (جدول‌های ۱، ۲، ۳، ۴، [supplemental 2](#)).

مقادیر Kn/Ks معرف موارد زیر است (Yang & Bielawski, 2000):

Kn/Ks = 1 reveals neutral selection  
Kn/Ks < 1 Shows purifying selection  
Kn/Ks > 1 Implicates accelerated evolution with positive selection

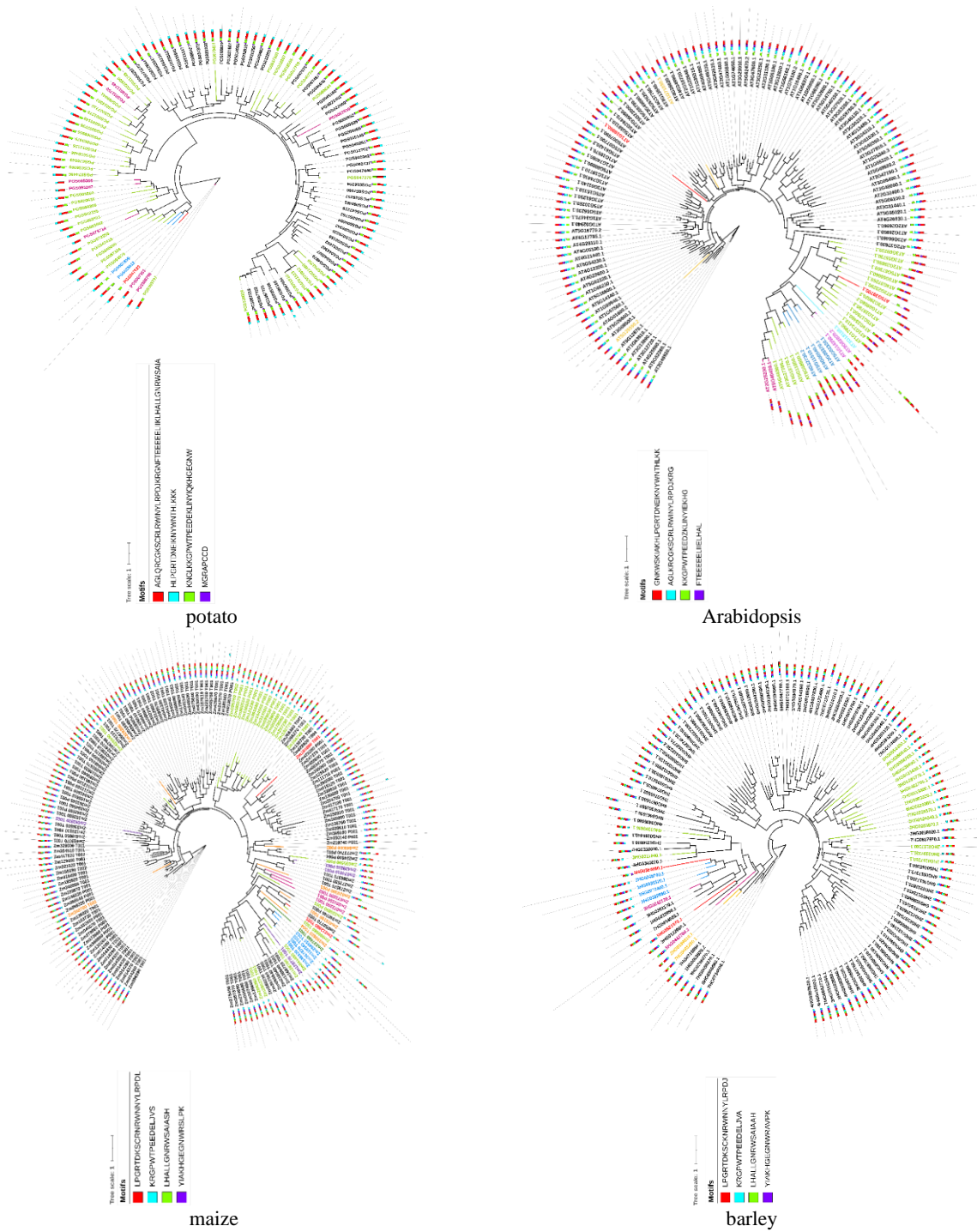
با تجزیه و تحلیل duplicate gene در سیب‌زمینی ۴ جفت ژن تکراری منجر به گزینش تکاملی مثبت و ۳ جفت ژن تکراری منجر به گزینش تکاملی منفی، در ذرت ۹ جفت ژن تکراری منجر به گزینش تکاملی مثبت و ۵۶ جفت ژن تکراری منجر به گزینش تکاملی منفی، در جو هر ۱۰ جفت ژن تکراری منجر به گزینش تکاملی منفی و در آرابیدوپسیس یک جفت ژن تکراری با گزینش تکاملی منفی شناسایی شد.

## هم‌ردیفی چندگانه و ترسیم درخت فیلوژنتیک

سایت iTOL (<https://itol.embl.de>) یک ابزار آنلاین برای نمایش، دستکاری و حاشیه‌نویسی روابط خویشاوندی است. این ابزار به‌صورت رایگان در دسترس می‌باشد. بررسی فیلوژنتیک و ترسیم درخت فیلوژنتیک (Phylogenetic Tree) در بسیاری از مطالعات بیولوژیکی و سایر مطالعات علمی حائز اهمیت می‌باشند. برای ترسیم درخت فیلوژنتیک، دامنه‌های حفاظت‌شده پروتئین‌های MYB با استفاده از نرم‌افزار آنلاین MEME شناسایی شدند. سپس با استفاده از سایت Clustal Omega داده‌ها هم‌ردیف و با استفاده از نرم‌افزار آنلاین iTOL نقشه فیلوژنتیک ترسیم گردید و براساس تعداد، نوع و پراکنش دامنه‌های اعضای خانواده ژنی MYB به چند دسته تقسیم شدند که با رنگ‌های مختلف علامت‌گذاری شده‌اند (اشکال، [supplemental 1](#)). قسمت بیرونی دایره درخت فیلوژنتیک نمایانگر درخت فیلوژنتیک توالی‌های MYB، دامنه‌های مختلف حفاظت‌شده و طول پروتئین‌ها می‌باشد. در مجموع با تجزیه و تحلیل دامنه‌ها در گیاه سیب‌زمینی مشخص شد که توالی‌های مشخص شده با رنگ سیاه بیشترین فراوانی را داشتند و هر چهار دامنه مشخص شده در شکل (قرمز، سبز، آبی و بنفش) را شامل می‌شدند که این امر نشان‌دهنده اصلی‌ترین دامنه‌های حفاظت‌شده در حوزه ساختاری پروتئین‌های MYB سیب‌زمینی هستند. توالی‌های باقیمانده براساس دامنه‌های سبز، قرمز، بنفش و آبی نشانه‌گذاری شدند. همچنین توالی‌های مشخص شده با رنگ قرمز و آبی خاص و ناهماهنگ با بقیه توالی‌های بود. تعداد و نوع دامنه‌های موجود در توالی‌های مختلف پروتئین‌های MYB متفاوت است و تفاوت در تعداد، نوع و پراکنش دامنه‌های حفاظت‌شده ممکن است منجر به عملکردهای متفاوت هر ژن گردد. نشانه‌گذاری و دسته‌بندی توالی‌ها در آرابیدوپسیس، ذرت و جو براساس رنگ‌بندی انجام شد. همچنانکه براساس تصاویر مشخص است مسیر تکاملی خانواده ژنی MYB در تک‌لپه‌ای‌ها و دولپه‌ای‌ها اختصاصی شده است.

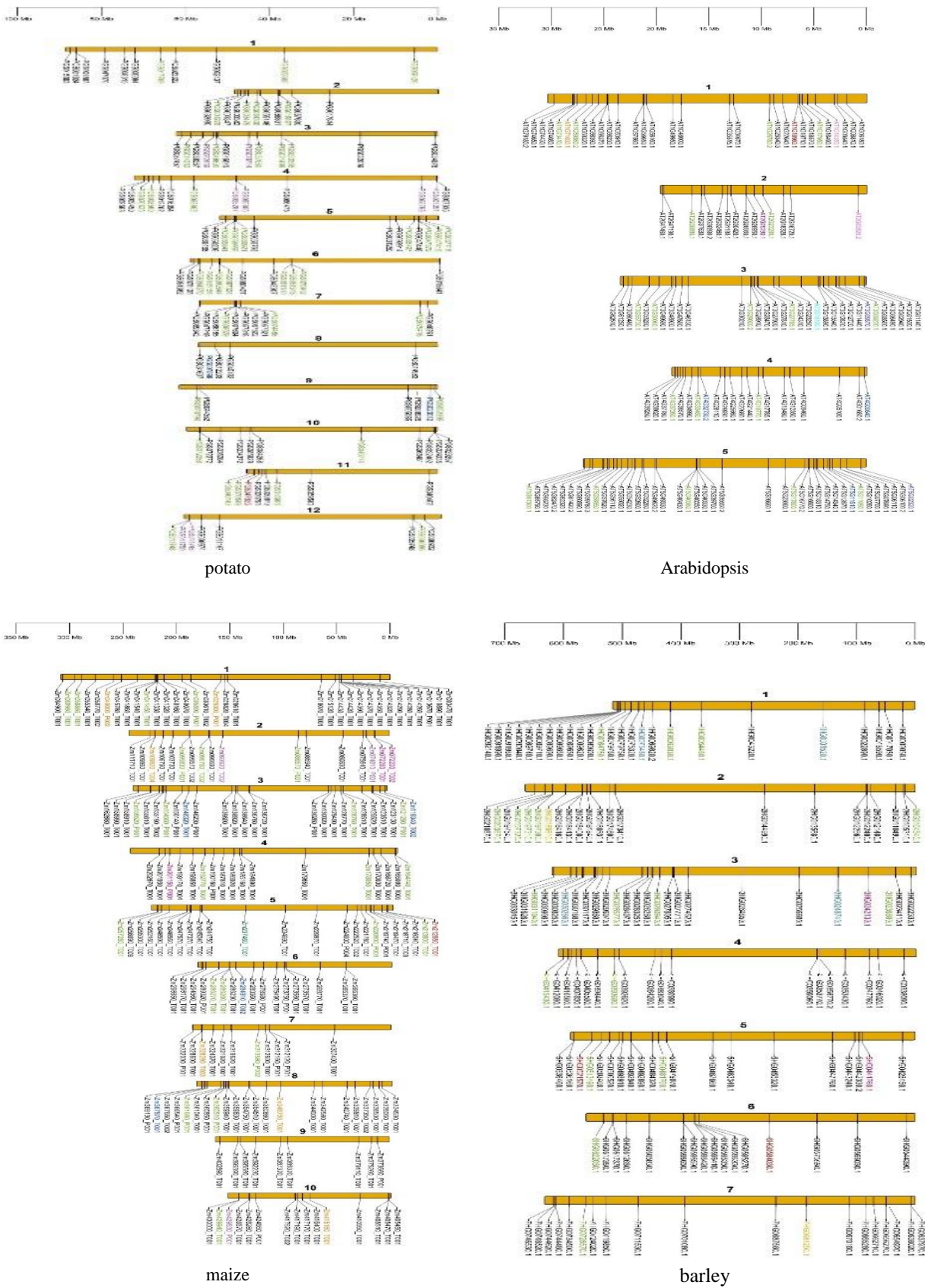
رنگ‌بندی آنها منطبق بر رنگ‌بندی درخت فیلوژنتیک انجام شد. خانواده ژنی MYB به‌طور غیریکنواخت روی تمامی کروموزوم‌های سیب‌زمینی، آرابیدوپسیس، ذرت و جو پراکنده شده‌اند (اشکال، [supplemental 1](#)).

**مکان‌یابی کروموزومی خانواده ژنی عوامل رونویسی MYB**  
 مکان کروموزومی اعضای خانواده ژنی MYB گیاهان سیب‌زمینی، آرابیدوپسیس، ذرت و جو (به‌ترتیب ۱۲۱، ۱۳۹، ۱۹۰ و ۱۴۴) به‌ترتیب روی ۱۲، ۵، ۱۰ و ۷ کروموزوم ترسیم شدند و



شکل ۱. درخت فیلوژنتیک خانواده ژنی MYB در گیاهان سیب‌زمینی، آرابیدوپسیس، ذرت و جو. براساس تعداد، نوع و پراکنش دامنه‌های حفاظت‌شده اعضای خانواده ژنی MYB دسته‌بندی انجام شد و با رنگ‌های مختلف علامت‌گذاری شدند.





شکل ۲. مکان ژن‌های خانواده MYB روی کروموزوم‌های سیب‌زمینی، آرابیدوپسیس، ذرت و جو. رنگ‌بندی آنها منطبق بر رنگ‌بندی درخت فیلوژنتیک است.

ABRE2، ABRE3a و ABRE4 (۲۲۶)، پاسخ‌دهنده به اتیلین ERE (۱۴۰)، عنصر همسو پاسخ به دمای پایین LTR (۳۲)، عنصر همسو پاسخ به جیبرلین P-box (۳۳)، عناصر پاسخ به زخم W box (۶۷) و WUN-motif (۷۱) و عنصر پاسخ به الیستینور WRE3 (۴۷) دارای فراوانی قابل ملاحظه بودند. در گیاه آرابیدوپسیس عناصر همسو پاسخ‌دهنده به خشکی MBS (۴۲)، MYB MYC (۳۶۴) و MYB (۴۱۵) MYB recognition site و (۲۵)، پاسخ به اسید آسبیزیک ABRE2، ABRE3a و ABRE4 (۴۵۱)، پاسخ‌دهنده به اتیلین ERE (۱۳۰)، عنصر همسو پاسخ به دمای پایین LTR (۶۸)، عنصر همسو پاسخ به جیبرلین P-box (۴۰)، عناصر پاسخ به زخم W box (۷۳) و WUN-motif (۷۷) و عنصر پاسخ به الیستینور WRE3 (۴۶) فراوانی قابل توجهی را به خود اختصاص دادند. در گیاه ذرت عناصر همسو پاسخ‌دهنده به خشکی MBS (۹۵)، MYC (۴۶۹)، MYB MYB recognition site (۶۱۹)، DRE core (۹۹)، MYB (۱۰۸) و DRE1 (۲۱)، پاسخ به اسید آسبیزیک ABRE2، ABRE3a و ABRE4 (۷۷۱)، پاسخ‌دهنده به اتیلین ERE (۶۶)، عنصر همسو پاسخ به دمای پایین LTR (۸۹)، عنصر همسو پاسخ به جیبرلین P-box (۵۹)، عناصر پاسخ به زخم W box (۱۰۴) و WUN-motif (۳۸) و عنصر پاسخ به الیستینور WRE3 (۱۱۷) فراوانی قابل توجهی داشتند. در گیاه جو، بیشترین فراوانی را عناصر همسو پاسخ‌دهنده به خشکی MBS (۸۶)، MYC (۳۵۵)، MYB MYB recognition site (۴۴۳)، DRE core (۹۶) و DRE1 (۱۱)، پاسخ به اسید آسبیزیک ABRE2، ABRE3a و ABRE4 (۵۲۰)، پاسخ‌دهنده به اتیلین ERE (۳۶)، عنصر همسو پاسخ به دمای پایین LTR (۶۹)، عنصر همسو پاسخ به جیبرلین P-box (۴۴)، عناصر پاسخ به زخم W box (۹۳) و WUN-motif (۲۴) و عنصر پاسخ به الیستینور WRE3 (۹۵) به خود اختصاص دادند. تعداد تکرار عناصر همسو در ناحیه راه‌انداز اعضای خانواده ژنی MYB از صفر، یک تا بیش از یک تکرار متغیر بود.

### الگوهای بیان ژن‌های MYB در گیاه آرابیدوپسیس

بررسی رابطه فیلوژنتیک و الگوهای عناصر همسو نشان می‌دهد که MYBها در گروه‌های مختلف قابل طبقه‌بندی هستند. فراوانی بیان متفاوت این ژن‌ها در بافت‌های مختلف اطلاعاتی را در رابطه با نقش آن‌ها در فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف فراهم می‌کند. در این

### شناسایی عناصر تنظیمی همسو پاسخ به هورمون‌ها و تنش‌ها

هورمون‌ها تأثیر عمیقی بر فیزیولوژی گیاهان دارند و تقریباً در تمام جنبه‌های فرآیند رشد و نمو گیاه شرکت می‌کنند. در این پژوهش عناصر تنظیمی همسو که شامل عناصر پاسخ به ABA (ABRE)، ABRE2، ABRE3a و ABRE4 (AT-ABRE)، پاسخ به جیبرلین (GARE، P-box و TATC-box)، پاسخ به اسید سالیسیلیک (SARE، TCA-element)، پاسخ به اتیلین (ERE)، پاسخ به اکسین (TGA-box، TGA-element و AuxRR-core) و پاسخ همزمان به جیبرلین و ABA (CARE)، عناصر تنظیمی پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی و الیستینور (WRE3، AT-rich sequence)، پاسخ به زخم و پاتوژن (W box، W box، WUN-motif)، پاسخ به خشکی (DRE core، DRE1، MBS، MYB، MYB recognition site)، پاسخ به کادمیوم (AP-1)، پاسخ به سرما (LTR)، پاسخ به تنش (TC-rich repeats) و پاسخ به anoxic (GC-motif) در ۱۵۰۰ نوکلئوتید در ناحیه بالادست (راه‌انداز) ژن‌های MYB شناسایی شدند (جدول، اشکال ۱، ۲، ۳ و ۴، [supplemental 3](#)). به‌عنوان مثال اکسین به‌عنوان یک عامل زیستی با تنظیم بیان ژن‌های پاسخ به اکسین، اثرات پلئوتروپیک عمیقی بر رشد و تمایز گیاهان دارد. واکنش اکسین معمولاً توسط عوامل پاسخ به اکسین (ARFs) هدایت می‌شود که به عنصر پاسخ به اکسین (AuxRE) در ناحیه راه‌انداز ژن هدف متصل می‌شوند. هورمون گیاهی اکسین که در تمامی مراحل رشد گیاهان نقش دارد، نقش مهمی در حفظ عملکرد فیزیولوژیکی و تنظیم اکثر پاسخ‌های اصلی گیاه از جمله طول‌شدن، تقسیم و تمایز سلولی، همچنین شروع ریشه‌دهی و ... دارد (Abel et al., 1996). آزمایش‌ها تنها تعداد محدودی از ژن‌های گیاهی را با عملکردهای مشخص شناسایی می‌کنند ولی در آنالیز بیوانفورماتیکی ناحیه راه‌انداز خانواده ژنی MYB گیاهان سیب‌زمینی، آرابیدوپسیس، ذرت و جو بیست و نه عنصر فعال همسو شناسایی شد که به‌طور بالقوه در تنظیم بیان ژن‌های خانواده MYB نقش دارند. ترکیب عناصر همسو و عوامل رونویسی در توالی راه‌انداز ژن به‌طور مشترک شروع رونویسی ژن را تنظیم می‌کنند و تفاوت‌ها و الگوهای توزیع عناصر همسو کارایی رونویسی را تنظیم و عملکرد ژن را تحت تأثیر قرار می‌دهند.

در این مطالعه، در گیاه سیب‌زمینی عناصر همسو پاسخ‌دهنده به خشکی MBS (۲۵)، MYC (۲۷۷)، MYB (۲۳۵) و MYB recognition site (۱۲)، پاسخ به اسید آسبیزیک ABRE،

در آزمایش [PRJNA324514](#) تنش‌های گرما، سرما و زخم در ساعت‌های مختلف بر بیان ژن‌های برگ بررسی شد. به عنوان مثال، ژن‌های AT5G07690 و AT5G61420 ۲۴ ساعت پس از تنش گرما کاهش بیان قابل ملاحظه‌ای داشتند. ژن‌های AT5G07700 و AT1G56650 بر اثر تنش گرما کاهش بیان ولی بر اثر زخم افزایش بیان نشان دادند. همچنین ژن AT2G47190 در اثر تنش گرما افزایش بیان نشان داد. ژن AT3G23250 در اثر تنش زخم در ۱ تا ۱۲ ساعت افزایش بیان و در اثر تنش سرما کاهش بیان نشان داد.

آزمایش [PRJNA488799](#) برای درک تغییرات زمان روز در پاسخ‌های شوک حرارتی آرابیدوپسیس انجام شد. تفاوت‌های قابل توجهی از نظر بقای گیاه در پاسخ به شوک گرمایی در زمان‌های مختلف روز مشاهده شد. به همین دلیل احتمال می‌رود پاسخ‌های رونویسی ممکن است یک عامل اساسی مهم باشند که در تغییرات فیزیولوژی مشارکت دارند و به قابلیت بقا پس از تنش گرمایی کمک می‌کنند. نمونه‌های بافتی چهار تکرار در دو نوبت در روز (سپیده‌دم و غروب) جمع‌آوری شدند و به جز شاهد، تنش حرارتی (۳۰ درجه سانتیگراد) به مدت ۱ ساعت اعمال گردید. به عنوان مثال، در این آزمایش در اثر تنش حرارتی ژن‌های AT5G65230، AT1G79180، AT1G17950، AT1G73410، AT5G23000، AT3G12720، AT1G57560، AT3G12820 در سپیده‌دم و غروب کاهش بیان نشان دادند.

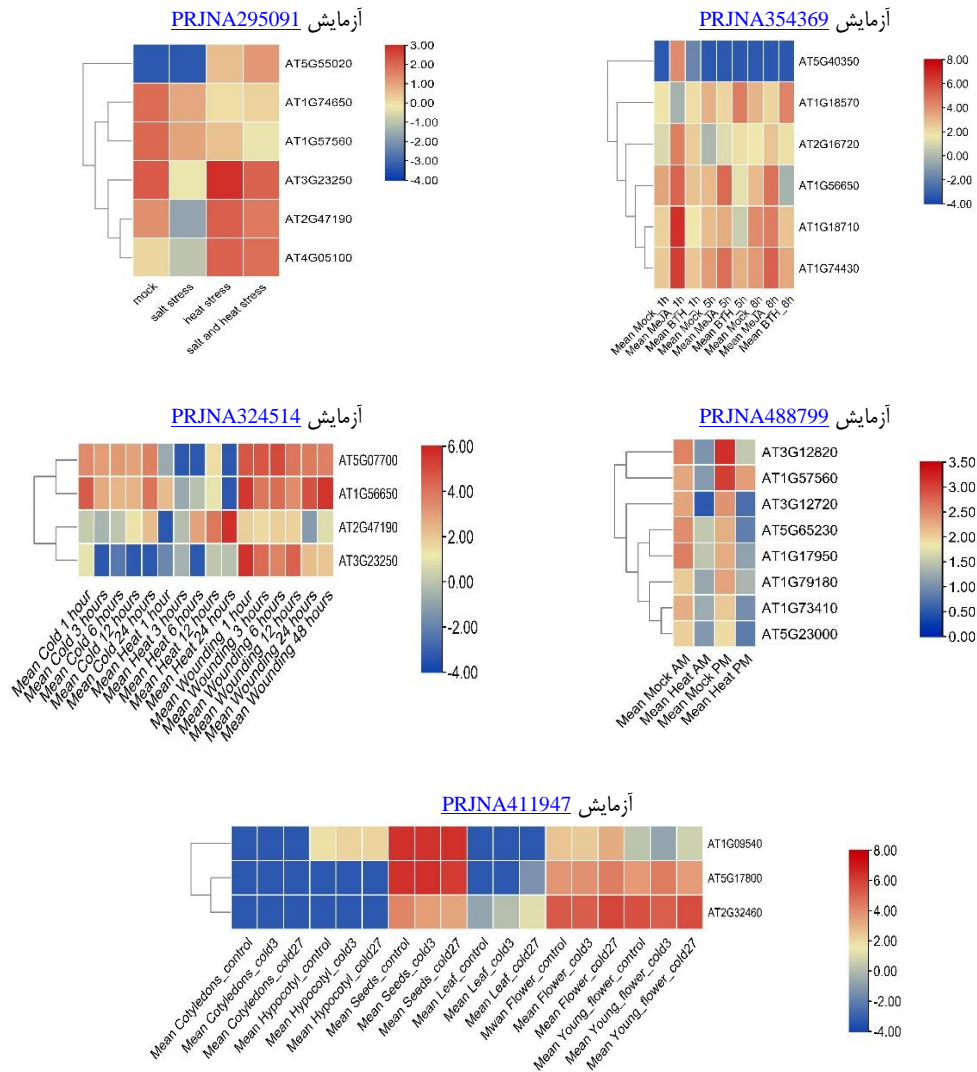
آزمایش [PRJNA411947](#) به منظور به دست آوردن دیدگاهی در رابطه با استراتژی‌های شبکه ژنی اختصاصی اندام‌ها در پاسخ به تنش سرما انجام شد. تغییرات بیانی ژن‌ها با اعمال تنش سرما  $4^{\circ}\text{C}$  روی دانه، لپه، هیپوکوتیل، گل‌های جوان و بالغ و برگ‌های گیاه آرابیدوپسیس انجام شد. پس از ۳ و ۲۷ ساعت بیان ژن‌ها در اندام‌های مختلف بررسی گردید. مشخص گردید روند افزایش یا کاهش بیان ژن‌های MYB در پاسخ به تنش سرما کاملاً وابسته به اندام گیاهی است. به عنوان مثال، ژن AT1G09540 در بذر نسبت به لپه و برگ افزایش چشمگیری نشان داد. ژن AT5G17800 در بذر، گل‌های جوان و بالغ نسبت به لپه، هیپوکوتیل و برگ افزایش بیان چشمگیری نشان داد. ژن AT2G32460 در بذر، گل بالغ و جوان نسبت به دیگر بافت‌ها افزایش بیان نشان داد.

پژوهش، سطح بیان ژن‌های MYB آرابیدوپسیس در چندین آزمایش براساس اطلاعات موجود در پایگاه داده بیانی دانشگاه علوم و تکنولوژی <http://ipf.sustech.edu.cn/pub/soybean/> به صورت بیوانفورماتیکی بررسی شد. در ۹ آزمایشی که به منظور شناسایی الگوهای بیان ژن‌های MYB در آرابیدوپسیس بررسی شد. ۴ آزمایش مربوط به تنش‌های غیرزیستی یک آزمایش پاسخ به هورمون‌ها و ۴ آزمایش مربوط به تنش زیستی بودند. نقشه حرارتی کامل خوشه‌بندی سلسله‌ای این آزمایشات در پیوست آورده شده است ([supplemental 4](#)).

### آنالیز بیان ژن‌های MYB در تنش‌های غیرزیستی

در آزمایش [PRJNA295091](#) تغییرات در سطح رونوشت‌برداری در برگ‌های گیاه آرابیدوپسیس که در معرض تنش شوری، گرما و هر دو تنش قرار گرفته بودند مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. به عنوان مثال، در این آزمایش ژن‌های AT1G74650 و AT1G57560 بر اثر تنش‌های گرما، شوری و شوری-گرما کاهش بیان نشان دادند و بیان ژن‌های AT2G47190، AT3G23250 و AT4G05100 در تنش شوری کاهش و در تنش گرما و تنش همزمان شوری-گرما افزایش نشان دادند. همچنین ژن AT5G55020 در تنش گرما و تنش همزمان شوری-گرما افزایش بیان نشان داد.

در آزمایش [PRJNA354369](#) گیاهچه‌های آرابیدوپسیس *تالیانا* با ۵۰ میکرومولار MeJA (methyl jasmonate) و ۳۰۰ میکرومولار BTH (salicylic acid analog benzothiadiazole) و محلول کنترل (۰.۲٪ سیلوت، ۰.۱٪ اتانول) اسپری شدند. گیاهچه‌های آرابیدوپسیس *تالیانا* دو هفته‌ای (اکوتیپ Col-0) رشد کرده در شرایط روز کوتاه (۹ ساعت روشنایی در دمای ۲۱ درجه سانتی‌گراد و ۱۵ ساعت تاریکی در دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد)، نمونه‌ها ۱، ۵ و ۸ ساعت پس از محلول‌پاشی برداشت شدند. به عنوان مثال، در این آزمایش مشاهده شد که ژن‌های AT2G16720، AT5G40350 و AT1G18710 پس از یک ساعت تیمار با متیل جاسمونات (MeJA) افزایش بیان، ژن‌های AT1G74430 و AT1G56650 پس از ۱، ۵ و ۸ ساعت افزایش بیان نشان دادند. ژن AT1G18570 بر اثر همین تیمار پس از ۱ ساعت کاهش بیان و در تیمار با BTH پس از ۱، ۵ و ۸ ساعت افزایش بیان نشان داد.

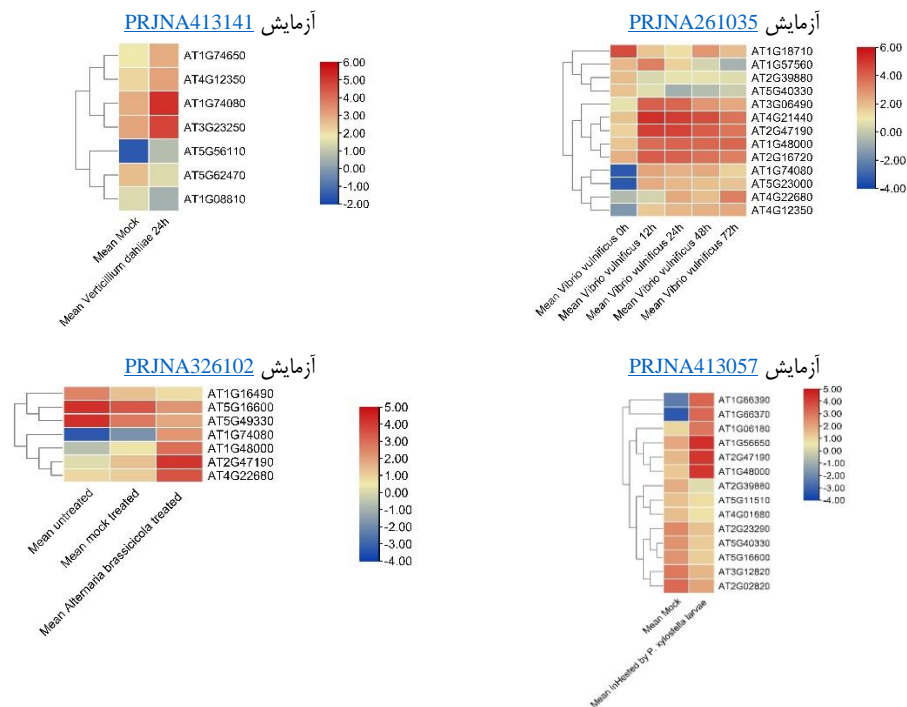


شکل ۳. نقشه‌های حرارتی الگوی بیان ژن‌های MYB در اثر تنش‌های غیرزیستی و پاسخ هورمونی در آراییدوپسیس

در آزمایش [PRJNA261035](#) پروفایل بیان ژن‌ها در آراییدوپسیس آلوده به باکتری *Vibrio vulnificus* مورد بررسی قرار گرفت. هدف از این مطالعه ارزیابی تغییرات بیان ژن‌ها در آراییدوپسیس با گذشت زمان پس از آلودگی به *Vibrio vulnificus* بود. پروفایل بیان ژن در صفر، ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تیمار با *Vibrio vulnificus* به‌دست آمد. مشخص گردید برخی از ژن‌های MYB در پاسخ به این باکتری در دوره‌های زمانی مختلف افزایش یا کاهش بیان نشان داده‌اند. به‌عنوان مثال، ژن‌های AT5G23000، AT4G22680، AT1G74080، AT4G12350، AT4G21440، AT2G47190، AT1G48000، AT2G16720 و AT3G06490 پس از ساعت صفر افزایش بیان و ژن‌های AT1G18710، AT1G57560، AT5G40330 و AT2G39880 کاهش بیان نشان دادند.

### آنالیز بیان ژن‌های MYB در تنش‌های زیستی

در آزمایش [PRJNA413141](#) تغییرات در پروفایل بیان ژن‌ها در تعامل *Verticillium dahliae*-*Arabidopsis* بررسی گردید. *Verticillium dahliae* یک پاتوژن آوندی خاکزی است که منجر به علائم شدید پژمردگی در طیف وسیعی از گیاهان می‌شود. کشت همزمان قارچ با ریشه‌های آراییدوپسیس به‌مدت ۲۴ ساعت باعث ایجاد تغییرات زیادی در پروفایل بیان ژن‌ها در هر دو موجود گردید. در این آزمایش به‌عنوان مثال، ژن‌های AT1G74080، AT3G23250، AT5G56110، AT4G12350 و AT1G74650 در تنش زیستی *V. dahliae* افزایش بیان و ژن‌های AT1G08810 و AT5G62470 کاهش بیان نشان دادند.



شکل ۴. نقشه‌های حرارتی الگوی بیان ژن‌های MYB در اثر تنش‌های زیستی در آرابیدوپسیس

تا در تنش‌های زیستی و غیرزیستی که گیاهان در فرآیند رشد با آن مواجه می‌شوند، مقاومت نشان دهند. امروزه موضوع اکثر تحقیقات کشاورزی مولکولی شناسایی ژن‌های کلیدی درگیر در فرآیند رشد و نمو، پاسخ‌های گیاه به تنش‌های زیستی و غیرزیستی و بررسی مکانیسم‌های مولکولی آن‌ها می‌باشد. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد عوامل رونویسی در طیف گسترده‌ای از مکانیسم‌های رشد و نمو و پاسخ‌های دفاعی در تنش‌های زیستی و غیرزیستی نقش کلیدی ایفا می‌کنند.

در این مطالعه، اعضای خانواده ژنی MYB در دو گیاه دولپه‌ای سیب‌زمینی (۱۲۱) و آرابیدوپسیس (۱۳۹) و دو گیاه تک‌لپه‌ای ذرت (۱۹۰) و جو (۱۴۴) شناسایی و از نظر تکاملی و پراکنش ژنومی بررسی شدند و خصوصیات عملکردی این خانواده ژنی در تنش‌های زیستی و غیرزیستی و پاسخ هورمونی براساس داده‌های بیانی RNAseq در آرابیدوپسیس ارزیابی گردید. در بررسی خصوصیات تکاملی دامنه‌های حفاظت‌شده MYB در دو گیاه تک‌لپه‌ای ذرت و جو از نظر هم‌ردیفی و ترتیب قرار گرفتن، شباهت چشمگیری با یکدیگر داشتند و این خصوصیت در رابطه با دو گیاه دولپه‌ای سیب‌زمینی و آرابیدوپسیس نیز صادق بود؛ ولی تفاوت دامنه‌های حفاظت‌شده MYB در تک‌لپه‌ای‌ها از دولپه‌ای قابل توجه بود. به عبارت دیگر، چنین به نظر می‌رسد که علی‌رغم شباهت ژن‌های MYB در تک‌لپه‌ای‌ها و دولپه‌ای‌ها، این خانواده

در آزمایش PRJNA326102 قارچ *Alternaria brassicicola* روی آرابیدوپسیس مورد بررسی قرار گرفت. *Alternaria brassicicola* یک پاتوژن قارچی نکروتروفیک مخرب است که سبب ایجاد بیماری لکه سیاه در خانواده براسیکا می‌گردد. به عنوان مثال، در این آزمایش ژن‌های AT1G74080، AT1G48000، AT2G47190 و AT4G22680 نسبت به تیمار با این قارچ افزایش بیان نشان دادند و در مواردی مانند AT1G16490، AT5G49330، AT5G16600 و AT4G22680 کاهش بیان نشان دادند.

در آزمایش PRJNA413057 بیان ژن‌های آرابیدوپسیس نسبت به نفوذ لارو *Plutella xylostella* مورد بررسی قرار گرفت. ژن‌های AT1G66390، AT1G66370، AT1G06180، AT1G48000، AT2G47190 و AT1G56650 با نفوذ این لارو افزایش بیان نشان دادند و ژن‌های AT4G01680، AT5G11510، AT2G39880، AT2G23290، AT5G40330، AT5G16600 و AT3G12820 و AT2G02820 کاهش بیان نشان دادند.

### نتیجه‌گیری و پیشنهادها

در هر لحظه از زندگی یک گیاه، هزاران ژن به صورت هماهنگ بیان می‌شوند تا رشد و نمو آن را تنظیم کنند و به آن کمک کنند

پاسخ هورمونی و چهار آزمایش تنش زیستی در آرابیدوپسیس بیانگر الگوی بیانی متفاوت ژن‌های خانواده MYB بود. به‌عنوان مثال، در بیش از یک آزمایش تنش غیرزیستی و پاسخ هورمونی، الگوی بیان ژن‌های AT1G57560، AT2G47190، AT3G23250 و AT1G56650 تغییر کردند. همچنین، در بیش از یک آزمایش تنش زیستی، الگوی بیان ژن‌های AT1G74080، AT4G12350، AT4G22680، AT2G47190، AT1G48000، AT2G39880، AT5G40330 و AT5G16600 تغییر کردند. از طرف دیگر، الگوی بیان ژن AT2G47190 در چندین تنش زیستی و غیرزیستی افزایش بیان نشان داد. بررسی بیوانفورماتیکی ابرخانواده ژنی MYB، مطالعات تکمیلی داده‌های بیانی ژن‌های منتخب، مسیر را برای تولید گیاهان تراریخته مدل با هدف بررسی ژن‌های القاکننده مقاومت به تنش تسهیل می‌نماید که در نهایت نتایج تحقیقات می‌تواند منجر به تولید گیاهان مقاوم به تنش از طریق اصلاح نباتات یا بیوتکنولوژی گردد.

ژنی در مسیر تکاملی در تک‌لپه‌ای‌ها و دولپه‌ای‌ها از یکدیگر انشقاق یافته‌اند. اعضای 2R-MYB رایج‌ترین زیرگروه از خانواده MYB در گیاهان تک‌لپه‌ای و دولپه‌ای بودند و تنها یک عضو از زیرخانواده 4R-MYB فقط در ذرت مشاهده شد. رویداد تکرار ژن عامل مهمی در تمایز عملکردی ژن‌ها در گونه است. در گیاهان مورد بررسی یک مسیر مهم برای تکثیر ژن‌های MYB و دلیل اصلی تمایز عملکردی ژن‌ها در این خانواده segmental duplication بود که منجر به گزینش تکاملی مثبت و منفی گردیده است. همچنین، رویداد تکرار ژن‌های خانواده MYB در ژنوم ذرت در مقایسه با سه گیاه دیگر قابل توجه بود. خانواده ژنی MYB روی تمامی کروموزوم‌های سیب‌زمینی، آرابیدوپسیس، ذرت و جو با پراکنش غیریکنواخت قرار گرفته بودند. در این پژوهش، وجود عناصر تنظیمی متنوع و متعدد پاسخ به تنش‌ها و هورمون‌ها در ناحیه راه‌انداز ژن‌های MYB دلالت بر تنوع کارکردی ژن‌های این ابرخانواده دارد. همچنین بررسی پروفایل بیانی این خانواده ژنی در پنج آزمایش تنش غیرزیستی و

## References

- Abel, S., Ballas, N., Wong, L., & Theologis, A. (1996). DNA elements responsive to auxin. *BioEssays*, 18(8), 647–654. <https://doi.org/10.1002/bies.950180808>
- Alexander, R. D., Wendelboe-Nelson, C., & Morris, P. C. (2019). The barley transcription factor HvMYB1 is a positive regulator of drought tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry*, 142, 246–253. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.07.014>
- Ampomah-Dwamena, C., Thrimawithana, A. H., Dejnopratt, S., Lewis, D., Espley, R. V., & Allan, A. C. (2019). A kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) R2R3-MYB transcription factor modulates chlorophyll and carotenoid accumulation. *New Phytologist*, 221(1), 309–325. <https://doi.org/10.1111/nph.15362>
- Anwar, M., Yu, W., Yao, H., Zhou, P., Allan, A. C., & Zeng, L. (2019). NtMYB3, an R2R3-MYB from Narcissus, regulates flavonoid biosynthesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(21), 5456. <https://doi.org/10.3390/ijms20215456>
- Century, K., Reuber, T. L., & Ratcliffe, O. J. (2008). Regulating the regulators: the future prospects for transcription-factor-based agricultural biotechnology products. *Plant Physiology*, 147(1), 20–29. <https://doi.org/10.1104/pp.108.117887>
- Chen, C., Chen, H., Zhang, Y., Thomas, H. R., Frank, M. H., He, Y., & Xia, R. (2020). TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data. *Molecular Plant*, 13(8), 1194–1202. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2020.06.009>
- Chen, G., He, W., Guo, X., & Pan, J. (2021). Genome-wide identification, classification and expression analysis of the MYB transcription factor family in Petunia. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4838. <https://doi.org/10.3390/ijms22094838>
- Chen, Y. H., Cao, Y. Y., Wang, L. J., Li, L. M., Yang, J., & Zou, M. X. (2018). Identification of MYB transcription factor genes and their expression during abiotic stresses in maize. *Biologia Plantarum*, 62(2), 222–230. <https://doi.org/10.1007/s10535-017-0756-1>
- Clevenger, J., Chu, Y., Scheffler, B., & Ozias-Akins, P. (2016). A developmental transcriptome map for allotetraploid *Arachis hypogaea*. *Frontiers in Plant Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01446>
- Du, H., Feng, B.-R., Yang, S.-S., Huang, Y.-B., & Tang, Y.-X. (2012). The R2R3-MYB transcription factor gene family in maize. *PLoS ONE*, 7(6), e37463. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037463>

- Dubos, C., Stracke, R., Grotewold, E., Weisshaar, B., Martin, C., & Lepiniec, L. (2010). MYB transcription factors in Arabidopsis. *Trends in Plant Science*, 15(10), 573–581. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.06.005>
- Fang, Q., Jiang, T., Xu, L., Liu, H., Mao, H., Wang, X., Jiao, B., Duan, Y., Wang, Q., Dong, Q., Yang, L., Tian, G., Zhang, C., Zhou, Y., Liu, X., Wang, H., Fan, D., Wang, B., & Luo, K. (2017). A salt-stress-regulator from the Poplar R2R3 MYB family integrates the regulation of lateral root emergence and ABA signaling to mediate salt stress tolerance in Arabidopsis. *Plant Physiology and Biochemistry*, 114, 100–110. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.02.018>
- Gangappa, S. N., & Botto, J. F. (2014). The BBX family of plant transcription factors. *Trends in Plant Science*, 19(7), 460–470. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2014.01.010>
- Grinevich, D. O., Desai, J. S., Stroup, K. P., Duan, J., Slabaugh, E., & Doherty, C. J. (2019). Novel transcriptional responses to heat revealed by turning up the heat at night. *Plant Molecular Biology*, 101(1–2), 1–19. <https://doi.org/10.1007/s11103-019-00873-3>
- Hajiebrahimi, A., Owji, H., & Hemmati, S. (2017). Genome-wide identification, functional prediction, and evolutionary analysis of the R2R3-MYB superfamily in Brassica napus. *Genome*, 60(10), 797–814. <https://doi.org/10.1139/gen-2017-0059>
- Jiang, C., Gu, J., Chopra, S., Gu, X., & Peterson, T. (2004). Ordered origin of the typical two- and three-repeat Myb genes. *Gene*, 326, 13–22. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2003.09.049>
- Jin, H., & Martin, C. (1999). Multifunctionality and diversity within the plant MYB-gene family. *Plant Molecular Biology*, 41, 577–585. <https://doi.org/10.1023/a:1006319732410>
- Katiyar, A., Smita, S., Lenka, S., Rajwanshi, R., Chinnusamy, V., & Bansal, K. (2012). Genome-wide classification and expression analysis of MYB transcription factor families in rice and Arabidopsis. *BMC Genomics*, 13(1), 544. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-544>
- Ke, Y., Abbas, F., Zhou, Y., Yu, R., & Fan, Y. (2021). Auxin-responsive R2R3-MYB transcription factors HcMYB1 and HcMYB2 activate volatile biosynthesis in *Hedychium coronarium* flowers. *Frontiers in Plant Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.710826>
- Kim, J. H., Hyun, W. Y., Nguyen, H. N., Jeong, C. Y., Xiong, L., Hong, S., & Lee, H. (2015). AtMyb7, a subgroup 4 R2R3 Myb, negatively regulates ABA-induced inhibition of seed germination by blocking the expression of the bZIP transcription factor ABI5. *Plant, Cell & Environment*, 38(3), 559–571. <https://doi.org/10.1111/pce.12415>
- Klempnauer, K., Gonda, T., & Bishop, J. (1982). Nucleotide sequence of the retroviral leukemia gene v-myb and its cellular progenitor c-myb: the architecture of a transduced oncogene. *Cell*, 31, 453–463.
- Klepikova, A. V., Kasianov, A. S., Gerasimov, E. S., Logacheva, M. D., & Penin, A. A. (2016). A high resolution map of the Arabidopsis thaliana developmental transcriptome based on RNA-seq profiling. *The Plant Journal*, 88(6), 1058–1070. <https://doi.org/10.1111/tpj.13312>
- Klepikova, A. V., Kulakovskiy, I. V., Kasianov, A. S., Logacheva, M. D., & Penin, A. A. (2019). An update to database TraVA: organ-specific cold stress response in Arabidopsis thaliana. *BMC Plant Biology*, 19(S1), 49. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1636-y>
- Li, M., Lin, L., Zhang, Y., & Sui, N. (2019). ZmMYB31, a R2R3-MYB transcription factor in maize, positively regulates the expression of CBF genes and enhances resistance to chilling and oxidative stress. *Molecular Biology Reports*, 46(4), 3937–3944. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-04840-5>
- Li, X., Xue, C., Li, J., Qiao, X., Li, L., Yu, L., Huang, Y., & Wu, J. (2016). Genome-Wide Identification, Evolution and Functional Divergence of MYB Transcription Factors in Chinese White Pear (*Pyrus bretschneideri*). *Plant and Cell Physiology*, 57(4), 824–847. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcw029>
- Li, Y., Xiao, J., Wu, J., Duan, J., Liu, Y., Ye, X., Zhang, X., Guo, X., Gu, Y., Zhang, L., Jia, J., & Kong, X. (2012). A tandem segmental duplication (TSD) in green revolution gene Rht-D1b region underlies plant height variation. *New Phytologist*, 196(1), 282–291. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04243.x>
- Lipsick, J. S. (1996). One billion years of Myb. *Oncogene*, 13(2), 223–235. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8710361/>
- Liu, J., Osbourn, A., & Ma, P. (2015). MYB Transcription Factors as Regulators of Phenylpropanoid Metabolism in Plants. *Molecular Plant*, 8(5), 689–708. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2015.03.012>
- Liu, J., Wang, J., Wang, M., Zhao, J., Zheng, Y., Zhang, T., Xue, L., & Lei, J. (2021). Genome-wide

- analysis of the R2R3-MYB gene family in *Fragaria × ananassa* and its function identification during anthocyanins biosynthesis in pink-flowered strawberry. *Frontiers in Plant Science*, 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.702160>
- Lynch, M., & Conery, J. S. (2000). The evolutionary fate and consequences of duplicate genes. *Science*, 290(5494), 1151–1155. <https://doi.org/10.1126/science.290.5494.1151>
- Ma, D., & Constabel, C. P. (2019). MYB repressors as regulators of phenylpropanoid metabolism in plants. *Trends in Plant Science*, 24(3), 275–289. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.12.003>
- Matsui, A., Ishida, J., Morosawa, T., Mochizuki, Y., Kaminuma, E., Endo, T. A., Okamoto, M., Nambara, E., Nakajima, M., Kawashima, M., Satou, M., Kim, J.-M., Kobayashi, N., Toyoda, T., Shinozaki, K., & Seki, M. (2008). Arabidopsis transcriptome analysis under drought, cold, high-salinity and ABA treatment conditions using a tiling array. *Plant and Cell Physiology*, 49(8), 1135–1149. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcn101>
- Matus, J. T., Aquea, F., & Arce-Johnson, P. (2008). Analysis of the grape MYB R2R3 subfamily reveals expanded wine quality-related clades and conserved gene structure organization across *Vitis* and *Arabidopsis* genomes. *BMC Plant Biology*, 8(1), 83. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-8-83>
- Mehrtens, F., Kranz, H., Bednarek, P., & Weisshaar, B. (2005). The Arabidopsis transcription factor MYB12 is a flavonol-specific regulator of phenylpropanoid biosynthesis. *Plant Physiology*, 138(2), 1083–1096. <https://doi.org/10.1104/pp.104.058032>
- Ogata, K., Morikawa, S., Nakamura, H., Sekikawa, A., Inoue, T., Kanai, H., Sarai, A., Ishii, S., & Nishimura, Y. (1994). Solution structure of a specific DNA complex of the Myb DNA-binding domain with cooperative recognition helices. *Cell*, 79(4), 639–648. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90549-5](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90549-5)
- Park, Y.-S., Kim, S.-K., Kim, S.-Y., Kim, K. M., & Ryu, C.-M. (2019). The transcriptome analysis of the *Arabidopsis thaliana* in response to the *Vibrio vulnificus* by RNA-sequencing. *PLOS ONE*, 14(12), e0225976. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225976>
- Paz-Ares, J., Ghosal, D., Wienand, U., Peterson, P., & Saedler, H. (1987). The regulatory c1 locus of *Zea mays* encodes a protein with homology to myb proto-oncogene products and with structural similarities to transcriptional activators. *EMBO Journal*, 6, 3553–3558.
- Rausch, S. (2016). *The function of Arabidopsis microRNAs in defense against the necrotrophic fungal pathogen Alternaria brassicicola*.
- Rushton, P. J., & Somssich, I. E. (1998). Transcriptional control of plant genes responsive to pathogens. *Current Opinion in Plant Biology*, 1(4), 311–315. [https://doi.org/10.1016/1369-5266\(88\)80052-9](https://doi.org/10.1016/1369-5266(88)80052-9)
- Sagawa, J. M., Stanley, L. E., LaFountain, A. M., Frank, H. A., Liu, C., & Yuan, Y. (2016). An R2R3-MYB transcription factor regulates carotenoid pigmentation in *Mimulus lewisii* flowers. *New Phytologist*, 209(3), 1049–1057. <https://doi.org/10.1111/nph.13647>
- Salih, H., Gong, W., He, S., Sun, G., Sun, J., & Du, X. (2016). Genome-wide characterization and expression analysis of MYB transcription factors in *Gossypium hirsutum*. *BMC Genetics*, 17(1), 129. <https://doi.org/10.1186/s12863-016-0436-8>
- Scholz, S. S., Schmidt-Heck, W., Guthke, R., Furch, A. C. U., Reichelt, M., Gershenzon, J., & Oelmüller, R. (2018). *Verticillium dahliae*-*Arabidopsis* interaction causes changes in gene expression profiles and jasmonate levels on different time scales. *Frontiers in Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00217>
- Song, Y., Yang, W., Fan, H., Zhang, X., & Sui, N. (2020). TaMYB86B encodes a R2R3-type MYB transcription factor and enhances salt tolerance in wheat. *Plant Science*, 300, 110624. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2020.110624>
- Stracke, R., Ishihara, H., Huep, G., Barsch, A., Mehrtens, F., Niehaus, K., & Weisshaar, B. (2007). Differential regulation of closely related R2R3-MYB transcription factors controls flavonol accumulation in different parts of the *Arabidopsis thaliana* seedling. *The Plant Journal*, 50(4), 660–677. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2007.03078.x>
- Stracke, R., Werber, M., & Weisshaar, B. (2001). The R2R3-MYB gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Current Opinion in Plant Biology*, 4(5), 447–456. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(00\)00199-0](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(00)00199-0)
- Suzuki, N., Bassil, E., Hamilton, J. S., Inupakutika, M. A., Zandalinas, S. I., Tripathy, D., Luo, Y., Dion, E., Fukui, G., Kumazaki, A., Nakano, R., Rivero, R. M., Verbeck, G. F., Azad, R. K., Blumwald, E., & Mittler, R. (2016). ABA is required for plant acclimation to a combination of salt and heat stress. *PLOS ONE*, 11(1), e0147625. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147625>
- Tiwari, R. K., Lal, M. K., Naga, K. C., Kumar, R., Chourasia, K. N., S, S., Kumar, D., & Sharma, S. (2020). Emerging roles of melatonin in mitigating



- abiotic and biotic stresses of horticultural crops. *Scientia Horticulturae*, 272, 109592. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109592>
- Wan, J., Wang, R., Zhang, P., Sun, L., Ju, Q., Huang, H., Lü, S., Tran, L.-S., & Xu, J. (2021). MYB70 modulates seed germination and root system development in *Arabidopsis*. *IScience*, 24(11), 103228. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.103228>
- Wang, J., Liu, Y., Tang, B., Dai, X., Xie, L., Liu, F., & Zou, X. (2020). Genome-wide identification and capsaicinoid biosynthesis-related expression analysis of the R2R3-MYB gene family in *Capsicum annuum* L. *Frontiers in Genetics*, 11. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.598183>
- Wang, N., Ma, Q., Ma, J., Pei, W., Liu, G., Cui, Y., Wu, M., Zang, X., Zhang, J., Yu, S., Ma, L., & Yu, J. (2019). A comparative genome-wide analysis of the R2R3-MYB gene family among four *Gossypium* Species and their sequence variation and association with fiber quality traits in an interspecific *G. hirsutum* × *G. barbadense* Population. *Frontiers in Genetics*, 10. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00741>
- Wu, M., Xu, X., Hu, X., Liu, Y., Cao, H., Chan, H., Gong, Z., Yuan, Y., Luo, Y., Feng, B., Li, Z., & Deng, W. (2020). SIMYB72 regulates the metabolism of chlorophylls, carotenoids, and flavonoids in tomato fruit. *Plant Physiology*, 183(3), 854–868. <https://doi.org/10.1104/pp.20.00156>
- Yang, A., Dai, X., & Zhang, W.-H. (2012). A R2R3-type MYB gene, OsMYB2, is involved in salt, cold, and dehydration tolerance in rice. *Journal of Experimental Botany*, 63(7), 2541–2556. <https://doi.org/10.1093/jxb/err431>
- Yang, L., Teixeira, P. J. P. L., Biswas, S., Finkel, O. M., He, Y., Salas-Gonzalez, I., English, M. E., Epple, P., Mieczkowski, P., & Dangl, J. L. (2017). *Pseudomonas syringae* type III effector HopBB1 promotes host transcriptional repressor degradation to regulate phytohormone responses and virulence. *Cell Host & Microbe*, 21(2), 156–168. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.01.003>
- Yang, Z., & Bielawski, J. P. (2000). Statistical methods for detecting molecular adaptation. *Trends in Ecology & Evolution*, 15(12), 496–503. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(00\)01994-7](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(00)01994-7)
- Yanhui, C., Xiaoyuan, Y., Kun, H., Meihua, L., Jigang, L., Zhaofeng, G., Zhiqiang, L., Yunfei, Z., Xiaoxiao, W., Xiaoming, Q., Yunping, S., Li, Z., Xiaohui, D., Jingchu, L., Xing-Wang, D., Zhangliang, C., Hongya, G., & Li-Jia, Q. (2006). The MYB transcription factor superfamily of *Arabidopsis*: expression analysis and phylogenetic comparison with the rice MYB family. *Plant Molecular Biology*, 60(1), 107–124. <https://doi.org/10.1007/s11103-005-2910-y>
- Yao, L., Jiang, Y., Lu, X., Wang, B., Zhou, P., & Wu, T. (2016). A R2R3-MYB transcription factor from *Lablab purpureus* induced by drought increases tolerance to abiotic stress in *Arabidopsis*. *Molecular Biology Reports*, 43(10), 1089–1100. <https://doi.org/10.1007/s11033-016-4042-7>
- Zhang, Y., Zhang, B., Yang, T., Zhang, J., Liu, B., Zhan, X., & Liang, Y. (2020). The GAMYB-like gene SIMYB33 mediates flowering and pollen development in tomato. *Horticulture Research*, 7(1), 133. <https://doi.org/10.1038/s41438-020-00366-1>
- Zhao, Y., Cheng, X., Liu, X., Wu, H., Bi, H., & Xu, H. (2018). The wheat MYB transcription factor TaMYB31 is involved in drought stress responses in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01426>
- Zhu, F., Luo, T., Liu, C., Wang, Y., Yang, H., Yang, W., Zheng, L., Xiao, X., Zhang, M., Xu, R., Xu, J., Zeng, Y., Xu, J., Xu, Q., Guo, W., Larkin, R. M., Deng, X., & Cheng, Y. (2017). An R2R3-MYB transcription factor represses the transformation of  $\alpha$ - and  $\beta$ -branch carotenoids by negatively regulating expression of CrBCH2 and CrNCED5 in flavedo of *Citrus reticulata*. *New Phytologist*, 216(1), 178–192. <https://doi.org/10.1111/nph.14684>