

垂丝海棠 *MhMYB114-Like* 的克隆及其在苹果愈伤组织中的抗缺铁功能鉴定

张仲兴, 程 丽, 王双成, 张 德, 刘 兵, 王延秀*

(甘肃农业大学园艺学院, 兰州 730070)

摘 要: 从苹果砧木垂丝海棠 (*Malus halliana* Koehne) 中克隆得到了 *MhMYB114-Like* 基因 (序列号: LOC103405832)。该基因包含全长为 602 bp 的完整开放阅读框, 编码 200 个氨基酸, 蛋白质等电点为 9.38。系统进化树分析表明, *MhMYB114-Like* 与野草莓该家族蛋白亲缘关系最近。分析 *MhMYB114-Like* 的启动子区域发现包含干旱、光、生长素和黄化响应等顺式作用元件。荧光定量 PCR 分析表明, 在缺铁胁迫下 *MhMYB114-Like* 在垂丝海棠叶和根中表达水平显著上升, *MhMYB114-Like* 的表达明显受缺铁胁迫的诱导。将 *MhMYB114-Like* 遗传转化 ‘王林’ 苹果愈伤组织, 通过测定相关生理指标进行抗性分析发现, 过量表达 *MhMYB114-Like* 可明显提高转基因愈伤组织对缺铁胁迫的抗性。结果表明 *MhMYB114-Like* 可响应缺铁胁迫, 在抵抗缺铁胁迫中具有重要作用。

关键词: 苹果; *MhMYB114-Like*; 功能鉴定; 缺铁胁迫; 基因表达

中图分类号: S 661.1

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2021) 01-0127-10

Cloning of *MhMYB114-Like* from *Malus halliana* and Its Functional Identification of Iron Deficiency Tolerance in Apple Callus

ZHANG Zhongxing, CHENG Li, WANG Shuangcheng, ZHANG De, LIU Bing, and WANG Yanxiu*

(College of Horticulture, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: The *MhMYB114-Like* gene (GenBank accession number: LOC103405832) was cloned from apple rootstock *Malus halliana*. The gene contains a full open reading frame of 602 bp, which encodes 200 amino acids, and the protein has an isoelectric point of 9.38. The phylogenetic tree analysis showed that apple *MhMYB114-Like* was the closest relative to wild strawberry. Promoter *cis*-element prediction of apple *MhMYB114-Like* showed that there were drought, light, auxin, yellowing and other responsive regulatory elements. Fluorescence quantitative PCR analysis demonstrated that the expression level of *MhMYB114-Like* gene was greatly increased in the leaves and roots of *Malus halliana* under iron deficiency condition, and the expression was obviously induced by iron deficiency stress. In addition, The genetic transformation of *MhMYB114-Like* into apple ‘Orin’ callus and resistance analysis by measuring related physiological indexes showed that the overexpression of *MhMYB114-Like* could significantly improve the resistance of transgenic callus to iron deficiency stress. Therefore, *MhMYB114-Like* is

收稿日期: 2020 - 05 - 06; 修回日期: 2020 - 07 - 10

基金项目: 甘肃农业大学青年研究生指导教师扶持基金项目 (2NDS-222)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: wangxy@gsau.edu.cn)

involved in the response to iron deficiency and play a crucial role in resisting iron deficiency stress.

Keywords: apple; *MhMYB114-Like*; functional identification; iron deficiency stress; gene expression

据统计,全世界近 40%的土壤有不同程度的缺铁现象(安华明和樊卫国, 2003)。中国的西北黄土高原是苹果栽培的优生区,然而该区域 70%以上的土壤为含 NaCl 与 NaHCO₃ 的高 pH 石灰质土壤,与铁易形成难溶性化合物,致使苹果出现缺铁黄化症状(Ivanov et al., 2012; Li et al., 2016),进而影响其产量与品质,严重制约苹果产业的发展。

MYB 是一类极其重要的逆境响应转录因子(Dubos et al., 2010; 居利香 等, 2020; 秦雅琪 等, 2020; 杨钰莹 等, 2020),在植物的缺铁胁迫耐受性方面发挥着重要作用。例如烟草 MYB10 和 MYB72 在缺铁条件下可促进 *NAS4* 的表达,以此来应对铁胁迫(Palmer et al., 2013)。苹果属小金海棠转录因子基因 *MxMYB1* 在缺铁胁迫下表达上调(曹冬梅 等, 2003)。Wang 等(2018)研究发现苹果 *MdMYB58* 可通过直接与植物中的 *MdMATE43* 启动子结合来调节铁稳态。此外,目前关于 MYB114 转录因子响应缺铁胁迫的研究未见国内外报道,有关的研究大多集中在影响花青素的合成上,例如, Gonzalez 等(2008)研究表明拟南芥中 MYB114 通过调控花青素合成水平影响果实着色。Yao 等(2017)也研究发现梨 *PyMYB114* 可与 *PybHLH3*、*PyERF3* 相互作用调节花青素的生物合成。

垂丝海棠(*Malus halliana* Koehne)是原产于甘肃河西走廊干旱、盐碱生境的苹果属植物,在长期的研究中发现其具有一定的耐缺铁特征(胡亚 等, 2018; 贾旭梅 等, 2019)。本课题组前期通过转录组学探讨垂丝海棠叶片、根系在缺铁胁迫下的转录水平变化,从转录组数据库中筛选出了受缺铁胁迫诱导显著表达的转录因子 MYB114-Like。因此,该试验以垂丝海棠为试材,克隆了 *MhMYB114-Like* 基因,并通过遗传转化获得 *MhMYB114-Like* 转基因苹果愈伤组织,对其进行缺铁胁迫处理,根据在缺铁条件下的生理指标变化对该基因耐缺铁功能进行鉴定,为培育有效耐缺铁胁迫的苹果砧木提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

选取大小一致饱满的垂丝海棠种子(2018年10月收获于甘肃武威),用0.2%高锰酸钾消毒30 min后,经流水冲洗12 h,置于4℃下沙藏30~45 d,种子发芽后种植于塑料钵[12.0 cm × 18.0 cm, 每钵含2.5 kg 基质(草炭:珍珠岩:蛭石 = 3:1:1)]中,每钵5株,置于甘肃农业大学玻璃温室进行统一管理,定期观察,选取长到约8片真叶的垂丝海棠幼苗进行后期的试验。‘王林’(Orin)苹果愈伤组织由山东农业大学郝玉金实验室保存惠赠,其固体培养基配方为MS + 30 g · L⁻¹蔗糖 + 3 mg · L⁻¹ 2,4-D + 0.4 mg · L⁻¹ 6-BA + 7 g · L⁻¹ 琼脂, pH 为5.8~6.0,每2周继代1次。

1.2 *MhMYB114-like* 的克隆及生物信息分析

取垂丝海棠根和叶组织各0.1 g,样品总RNA提取采用Trizol法,依据TaKaRa的PrimeScriptTM RT reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time)说明书进行反转录。此外,在苹果基因组数据库中检索 *MhMYB114-Like* CDS 序列,利用DNAMAN 软件来设计特异性引物(表1),以垂丝海棠实生苗获得的cDNA为模板进行PCR扩增。反应程序:94℃预变性5 min; 94℃变性30 s, 58℃退火30 s, 72℃延伸90 s, 32个循环; 72℃延伸10 min。PCR产物用2%的琼脂糖凝胶进行电泳

并回收目的条带, 连接 pMD19-T 克隆载体进行测序。

通过 ProtParam 网站进行该蛋白的理化性质分析; DNAMAN 软件进行蛋白质氨基酸序列比对; 使用软件 MEGA 5.0, 采用邻接法 (NJ) 构建系统进化树; 利用网站 PlantCARE 预测 *MhMYB114-Like* 启动子上的顺式作用元件。

表 1 本研究中所用到的引物
Table 1 Primers used in this study

| 基因 Gene | 序列 (5'-3') Sequence |
|---------------------------------|---|
| <i>MYB114-like</i> (qRT-PCR) | F: TGATCAGACCTCAACCCCGA; R: GACGACGACGTTTGTGGTGA |
| <i>MYB114-like</i> (gene clone) | F: ATGGAGGGATATAACGTAACTTGA; R: CTAAGTCAAGACTGGGACATACA |

1.3 垂丝海棠幼苗缺铁胁迫处理

待幼苗长到 8 片真叶时, 选取健康、长势一致的幼苗移到含有 1/2 完全营养液 [pH (6.5 ± 0.2)] 的塑料钵中进行预培养, 后在完全营养液 (Han et al., 1994) 中再培养 7 d, 每钵 5 株, 并用电动氧气泵持续通氧, 每 7 d 更换营养液。温度 26 °C, 光照 16 h/黑暗 8 h, 光照强度为 6 000 lx, 相对湿度 85% (光照) /80% (黑暗)。最后对垂丝海棠幼苗进行 40 μmol · L⁻¹ (加铁) 和 0 μmol · L⁻¹ (缺铁) 胁迫处理, 铁由 FeSO₄ · 7H₂O (分析纯) 提供, 每处理 3 次重复, 每次重复 5 株, 分别在 0、6、12、24、48 和 72 h 等 6 个时间点进行采样。

1.4 荧光定量 PCR 分析

以 *GDAPDH* 为内参基因, 利用 Roche 的 Light Cycler[®] 96 Instrument PCR 仪进行 PCR 反应, 引物见表 1。Real-time PCR 扩增体系为: 2 × SYBR[®] Premix Ex Taq[™] II 10 μL, 10 μmol · L⁻¹ 上游引物 0.8 μL, 10 μmol · L⁻¹ 下游引物 0.8 μL, cDNA 模板 2 μL, ddH₂O 6.4 μL。扩增程序为: 95 °C 30 s, 95 °C 5 s, 60 °C 34 s, 95 °C 15 s, 60 °C 60 s, 95 °C 15 s, 共 40 个循环, 3 次重复。采用 2^{-ΔΔCT} 法对定量所得数据进行分析。

1.5 植物表达载体的构建及苹果愈伤组织的遗传转化

参照 Hu 等 (2015) 的方法进行表达载体的构建及农杆菌介导的苹果愈伤组织遗传转化, 将 *MhMYB114-Like* 转入 ‘王林’ 苹果愈伤组织中。首先, 将纯化回收的质粒用 *Nde* I 和 *Kpn* I 两种酶双酶切后连接到 PRI101 表达载体上, 转化大肠杆菌, 鉴定阳性单菌落, 采用冻融法转化 LBA4404 农杆菌, 用于遗传转化。

取继代 2 周左右处于指数生长期的悬浮培养愈伤组织进行农杆菌浸染, 15 ~ 20 min 后除去菌液, 将愈伤组织转移至无抗生素的固体培养基上暗培养 2 d, 之后用无菌水清洗 3 ~ 5 次, 每次清洗 3 min。接着将愈伤组织转移至含 300 mg · L⁻¹ 头孢霉素和 100 mg · L⁻¹ 卡那霉素的筛选培养基上, 在黑暗条件下培养 30 ~ 60 d, 获得稳定生长的抗性愈伤组织, 提取 DNA, 用实时荧光定量 PCR 进行检测。

1.6 苹果愈伤组织的缺铁胁迫处理及相关生理指标测定

将野生型愈伤组织及转基因愈伤组织在正常条件下 (即前述的 ‘王林’ 苹果愈伤组织的培养基) 培养 15 d, 然后转接至含 0 (- Fe) 和 40 μmol · L⁻¹ (+ Fe) 的培养基上培养 20 d 后测定相关指标。

苹果愈伤组织中超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD) 和 CAT 活性的测定采用试剂盒法 (购自苏州科铭); 铁螯合物还原酶 (FCR) 活性及 Fe²⁺ 的测定均参考刘伟等 (2017) 的方法。

1.7 数据分析

试验数据采用单因素 ANOVA 的 Duncan's 法进行显著性分析。

2 结果与分析

2.1 *MhMYB114-Like* 基因克隆及其编码蛋白序列分析

从苹果砧木垂丝海棠 (*Malus halliana* Koehne) 中克隆得到了 *MhMYB114-Like* 基因 (序列号: LOC103405832)。该基因包含长为 602 bp 的完整开放阅读框, 编码 200 个氨基酸, 蛋白质等电点为 9.38, 为碱性蛋白。此外, *MYB114-Like* 的正、负残基数分别为 32 和 25, 平均疏水性为 -0.758, 为亲水性蛋白。由此可知 *MYB114-Like* 编码的蛋白为碱性的亲水性蛋白。

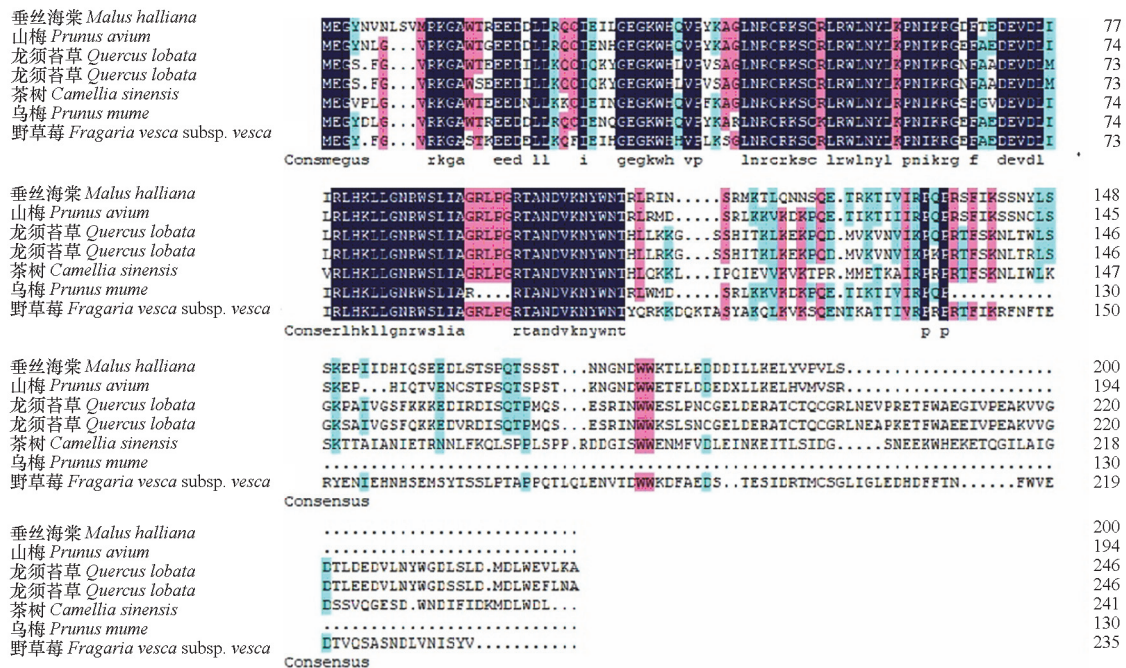


图 1 垂丝海棠 *MhMYB114-Like* 蛋白与其他物种中的该蛋白序列比对
Fig. 1 The *MhMYB114-Like* protein in *Malus halliana* was compared with that of other species

将不同物种中的 *MYB114-Like* 蛋白序列从 NCBI 中下载下来, 包含垂丝海棠 (*Malus halliana*, NP_001280757.1)、龙须苔草 (*Quercus lobata*, XP_030952856.1)、龙须苔草 (*Quercus lobata*, XP_030941972.1)、野草莓 (*Fragaria vesca* subsp. *vesca*, XP_004302217.1)、乌梅 (*Prunus mume*, XP_016652295.1)、山梅 (*Prunus avium*, XP_021811965.1) 茶树 (*Camellia sinensis*, XP_028068989.1)。利用 DNAMAN 软件进行氨基酸序列比对, 结果显示, 垂丝海棠 *MYB114-Like* 和其他物种的 *MYB114-Like* 蛋白在 N 端有较高的保守性, 而在 C 端有着一一定的差异 (图 1)。

2.2 苹果 *MhMYB114-Like* 的系统进化树分析

选取苹果 *MhMYB114-Like* 蛋白与其他物种中的 *MhMYB114-Like* 蛋白序列, 经 MEGA 5.0 软件

邻接法（Neighbour Joining, NJ）构建系统发育树（图 2）。*MhMYB114-Like* 与野草莓蛋白（XP004302217.1）的同源性较高。



图 2 垂丝海棠 *MhMYB114-Like* 与其他物种家族该蛋白的系统进化分析
进化树分支处的数字表示该分支的置信度，数值越大，可靠性越高。

Fig. 2 Phylogenetic analysis of this protein of *MhMYB114-like* from *Malus halliana* and other species families
The number at the branch of the evolutionary tree indicates the confidence of the branch, the larger the value, and the higher the reliability.

2.3 *MhMYB114-Like* 启动子顺式作用元件分析

利用网站 PlantCARE 预测苹果 *MhMYB114-Like* 启动子上的顺式作用元件发现，包含多种激素响应相关的调控元件，如生长素响应元件、脱落酸响应元件、细胞分裂素响应元件；环境因子响应元件，如光响应元件；非生物胁迫响应元件，如干旱响应元件、黄化响应元件、耐寒响应元件等（表 2）。说明 *MhMYB114-Like* 可对干旱、光、激素等多种外界信号做出响应，参与一系列的生物学过程来调控植物的生长发育。

表 2 *MhMYB114-Like* 基因上游调控序列重要顺式作用元件分析
Table 2 Some important *cis*-acting regulatory elements in the upstream regulatory sequences of *MhMYB114-Like*

| 元件名称 | 核心序列 | 位点功能 | 位置 |
|----------------------------|------------|---|----------|
| <i>cis</i> -Acting element | Sequence | Function of site | Location |
| GT1CONSENSUS | GRWAAW | 光响应元件 <i>cis</i> -Acting element involved in light responsiveness | - 586 |
| DPBFCOREDCDC3 | ACACNNG | 脱落酸响应 <i>cis</i> -Acting element involved in abscisic acid responsiveness | - 619 |
| LTRECOREATCOR15 | CCGAC | 耐寒响应 <i>cis</i> -Acting element involved in resistance cold responsiveness | - 1 549 |
| CIACADIANLELHC | CAANNNNATC | 生理节律响应 <i>cis</i> -Acting element involved in circadian responsiveness | - 1 203 |
| ACGTATERD1 | ACGT | 黄化响应元件 <i>cis</i> -Acting element involved in chlorosis responsiveness | - 804 |
| DOFCOREZM | AAAG | 碳代谢响应元件 <i>cis</i> -Acting element involved in carbon metabolism | + 704 |
| CATATGGMSAUR | CATATG | 生长素响应元件 <i>cis</i> -Acting element involved in the auxin responsiveness | + 1 217 |
| SREATMSD | TTATCC | 糖响应元件 <i>cis</i> -Acting element involved in sugar responsiveness | + 946 |
| PYRIMIDINEBOXHVEPB1 | TTTTTTCC | 激素调控元件 <i>cis</i> -Acting element involved in hormone responsiveness | + 1 877 |
| ARRIAT | NGATT | 细胞分裂素响应 <i>cis</i> -Acting element involved in cytokinin responsiveness | + 1 991 |
| MYB2CONSENSUSAT | YAACKG | 耐旱响应 <i>cis</i> -Acting element involved in drought-tolerant responsiveness | + 1 049 |

2.4 垂丝海棠幼苗中 *MhMYB114-Like* 对缺铁胁迫响应

如图 3 所示，垂丝海棠幼苗经缺铁（- Fe）处理 6 h 时，*MhMYB114-Like* 基因在叶和根中已有较高的表达量，分别为同时期对照（+ Fe）的 2.89 倍和 2.81 倍。叶和根分别在 48 和 12 h 时表达量达到峰值，之后有所降低。这表明缺铁条件下，*MhMYB114-Like* 在苹果砧木垂丝海棠的叶和根中表达显著上升。说明其能够响应缺铁胁迫，可能在缺铁胁迫中发挥着重要作用。

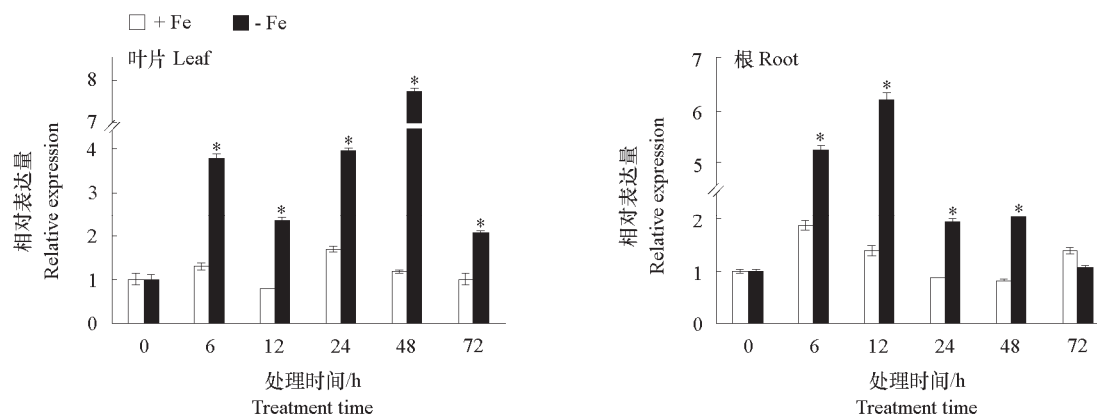


图3 *MhMYB114-Like* 在缺铁胁迫下的表达水平

* $P < 0.05$, 表示与对照相比差异显著水平。

Fig. 3 Expression level of *MhMYB114-Like* under iron deficiency stress

* $P < 0.05$, represents a significant level of difference compared to the control group.

2.5 转 *MhMYB114-Like* 愈伤组织的鉴定及在缺铁胁迫下的形态特征

用 qRT-PCR 检测转基因株系 *MhMYB114-Like* 表达量, 获得 3 个转基因株系 L1、L2 和 L3 (图 4)。然后对获得的 *MhMYB114-Like* 转基因苹果愈伤组织与野生型愈伤组织 (WT) 进行缺铁胁迫处理, 经 qRT-PCR 检测发现, 转 *MhMYB114-Like* 基因愈伤株系 L1、L2、L3 的表达量相比于野生型的显著升高, 分别为野生型的 2.56 倍、2.48 倍和 2.87 倍 (图 4)。说明 *MhMYB114-Like* 可响应缺铁胁迫。

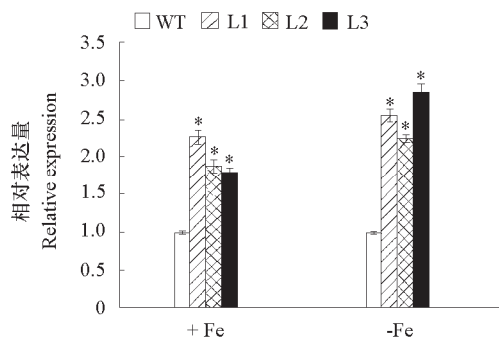


图4 转 *MhMYB114-Like* 愈伤的 qRT-PCR 验证及其在缺铁胁迫下的相对表达量

Fig. 4 qRT-PCR verification of transgenic *MhMYB114-Like* callus and the relative expression under iron deficiency stress

* $P < 0.05$.

如图 5 所示, 在加铁条件下, 苹果野生型愈伤组织与转基因愈伤组织 (L1、L2、L3) 的长势基本一致, 而在缺铁条件下, 野生型愈伤组织和转基因愈伤组织的生长状况均受到了抑制, 但转基因愈伤组织的长势好于野生型。

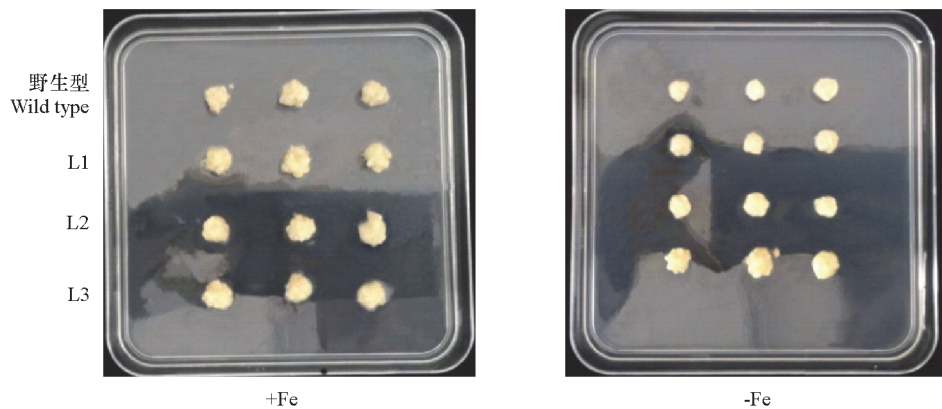


图 5 ‘王林’ 苹果野生型和转 *MhMYB114-Like* 基因愈伤组织在加铁和缺铁条件下的生长情况

Fig. 5 Growth of wild-type and transgenic *MhMYB114-Like* callus of ‘Orin’ Apple under iron and iron deficiency conditions

2.6 *MhMYB114-Like* 过量表达的苹果愈伤组织对缺铁的抗性

如图 6 所示, 正常加铁对照 (+ Fe) 条件下, 野生型愈伤组织与转基因愈伤组织相比较, SOD、POD、CAT 之间差异均不显著。缺铁条件下野生型和转基因愈伤的 SOD、POD、CAT 均有所下降, 但野生型的下降幅度大。

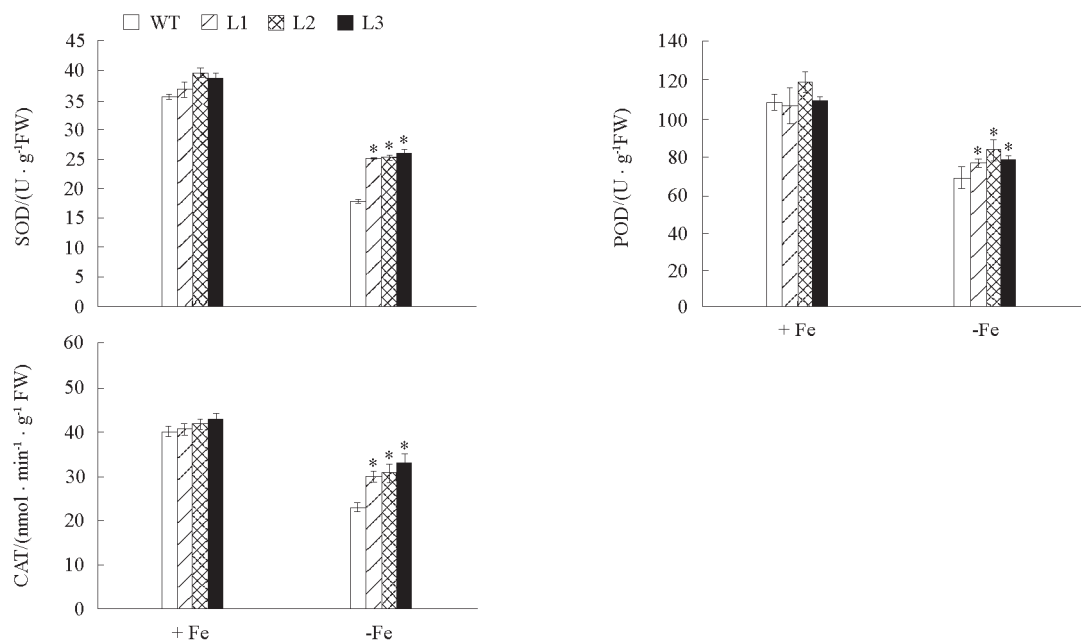


图 6 *MhMYB114-Like* 过量表达提高 ‘王林’ 苹果愈伤组织 L1、L2、L3 及其野生型 WT 中的抗氧化酶活性

Fig. 6 Overexpression of *MhMYB114-Like* improves enzyme activity in ‘Orin’ apple callus

L1, L2, L3 and wild type WT

* $P < 0.05$.

如图 7 所示, 正常加铁对照 (+ Fe) 条件下, 野生型愈伤组织与转基因愈伤组织相比较, FCR 活性和 Fe^{2+} 含量之间差异均不显著。缺铁条件下野生型和转基因愈伤的 Fe^{2+} 含量有所下降, 但野生

型的下降幅度大。缺铁胁迫下，转基因愈伤组织株系 L1、L2、L3 的亚铁离子含量分别是野生型的 1.45 倍、1.57 倍、1.80 倍。此外，缺铁胁迫下野生型与转基因愈伤组织 FCR 活性明显上升，但野生型的上升幅度小，转基因愈伤组织株系 L1、L2、L3 的 FCR 活性分别为野生型的 1.33 倍、1.47 倍和 1.48 倍。

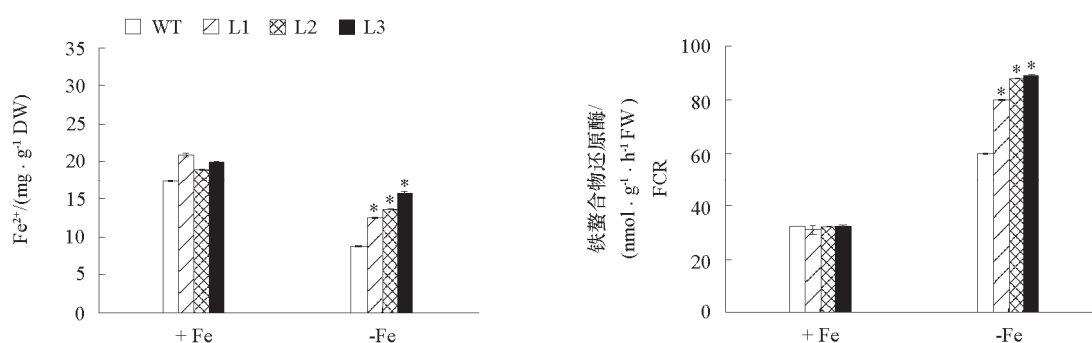


图 7 *MhMYB114-Like* 过量表达提高‘王林’苹果愈伤组织 L1、L2、L3 及其野生型 WT 中的 Fe²⁺ 含量和 FCR 活性

Fig. 7 Overexpression of *MhMYB114-Like* improves Fe²⁺ content and FCR activity in ‘Orin’ apple callus

L1, L2, L3 and wild type WT

* $P < 0.05$.

以上结果说明，*MhMYB114-like* 过量表达提高了苹果愈伤组织对缺铁胁迫的抗性。

3 讨论

转录因子在植物的胁迫应答中发挥着关键作用，通过与启动子区域中的顺式作用元件结合，激发目标基因表达，从而使植物能够抵御外部环境 (Singh et al., 2002; Nakashima et al., 2009; 张慧琳 等, 2019)。MYB 作为一类庞大的转录因子家族，可控制广泛的下游基因，参与植物生长和代谢过程，调控植物缺铁响应。本试验中对垂丝海棠 *MhMYB114-Like* 在缺铁胁迫方面的作用进行了研究。缺铁胁迫处理时，叶和根中 *MhMYB114-Like* 的表达量明显上升，分别在缺铁处理后的 48 h 和 12 h 时达到峰值，这不仅说明 *MhMYB114-Like* 基因是受缺铁调控的，而且也反映了 *MhMYB114-Like* 在缺铁胁迫时上调表达。此外，启动子分析结果显示 *MhMYB114-Like* 序列上存在黄化响应元件，推测可能与铁胁迫诱导 *MhMYB114-Like* 上调表达相关。

另外，*MhMYB114-Like* 的表达明显受到缺铁胁迫的诱导，推测其在苹果的耐缺铁性方面起到重要作用。通过遗传转化苹果愈伤组织，进行缺铁处理及 qRT-PCR 检测发现，缺铁胁迫下转基因愈伤较野生型的表达量显著上升。植物遭受缺铁逆境胁迫时会产生一系列的反应以适应环境。SOD、CAT 和 POD 是研究植物抗性的关键指标，可以清除植物体内的活性氧，致使膜脂过氧化程度及膜受损程度降低 (田治国 等, 2011; 周开兵 等, 2019)。本试验中，苹果愈伤组织在铁胁迫下的酶活性 SOD、POD 和 CAT 低于相对应的加铁 (对照) 条件下的酶活性，这是因为铁是植物体内各种抗氧化酶的重要组成成分，当植物缺铁时，各种抗氧化酶的活性都将会受到抑制而下降；但缺铁条件下苹果转基因愈伤的酶活性显著高于相应野生型愈伤组织的酶活性，这说明转基因愈伤组织动员保护系统的能力强于野生型，有着强大的活性氧清除能力，从而可维持膜系统的稳定 (Sinha et al., 1997)。此外，FCR 活性作为铁素吸收的一个重要生理指标之一，在本试验中缺铁胁迫下转基因愈伤组织

FCR 活性显著高于野生型, 这与 Fan 等 (2017) 在甘薯中对 *IbVPI* 的研究结果一致, 说明 *MhMYB114-Like* 能够提高 FCR 活性。另外, 铁在植物体中一般是以三价铁的形式运输到达地上部后, 还原为二价铁才可供植物吸收利用 (张芸 等, 2007), 因此亚铁离子是植物吸收利用的有效形式。本研究中, 缺铁胁迫下转基因愈伤的 Fe^{2+} 含量显著高于野生型, 这也反映了转 *MhMYB114-Like* 愈伤具有响应缺铁胁迫特性。

综上所述, 该基因过量表达提高了转基因苹果愈伤组织对缺铁胁迫的抗性, 为缺铁响应过程中的正调控因子。故说明 *MhMYB114-Like* 具有抵抗缺铁胁迫的功能。

References

- An Hua-ming, Fan Wei-guo. 2003. Physiological effects of iron deficiency on *Pyrus pashia* Buch-Ham. *Scientia Agricultura Sinica*, (8): 935 – 940. (in Chinese)
- 安华明, 樊卫国. 2003. 缺铁胁迫对川梨的生理影响. *中国农业科学*, (8): 935 – 940.
- Cao Dong-mei. 2003. Cloning and expression analysis of related genes under Fe-deficiency stress in *Malus xiaojinensis* [Ph. D. Dissertation]. Beijing: China Agricultural University. (in Chinese)
- 曹冬梅. 2003. 苹果属小金海棠缺铁胁迫相关基因的克隆和表达分析 [博士论文]. 北京: 中国农业大学.
- 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.
- Fan Wei-juan, Wang Hong-xia, Wu Yin-liang, Yang Nan, Zhang Peng. 2017. H^+ -pyrophosphatase IbVP 1 promotes efficient iron use in sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) lam.]. *Plant Biotechnology Journal*, 15 (6): 698 – 712.
- Gonzalez A, Zhao M, Leavitt J M, Lloyd A M. 2008. Regulation of the anthocyanin biosynthetic pathway by the TTG1/bHLH/MYB transcriptional complex in *Arabidopsis* seedlings. *Plant Journal*, 53 (5): 814 – 827.
- Hu Ya. 2018. Physiological characteristics and transcriptome analysis of apple rootstock seedlings *Malus halliana* under iron deficiency stress [M. D. Dissertation]. Lanzhou: Gansu Agricultural University. (in Chinese)
- 胡 亚. 2018. 缺铁胁迫下苹果砧木垂丝海棠幼苗的生理特性和转录组学分析 [硕士论文]. 兰州: 甘肃农业大学.
- Han Z H, Wang Q, Shen T. 1994. Comparison of some physiological and biochemical characteristics between iron-efficient and iron-inefficient species in the genus *Malus*. *Journal of Plant Nutrition*, 17 (7): 1257 – 1264.
- Hu D G, Sun M H, Sun C H, Liu X, Zhang Q Y, Zhao J, Hao Y J. 2015. Conserved vacuolar H^+ -ATPase subunit B1 improves salt stress tolerance in apple calli and tomato plants. *Scientia Horticulturae*, 197: 107 – 116.
- Ivanov R, Brumbarova T, Bauer P. 2012. Fitting into the harsh reality: regulation of iron-deficiency responses in dicotyledonous plants. *Molecular Plant*, 5 (1): 27 – 42.
- Jia Xu-mei, ZhuYan-fang, Wang Hai, Wu Yu-xia, Zhao Tong, Cheng Li, Zhu Zu-lei, Wang Yan-xiu. 2019. Study on physiological response of *Malus halliana* to saline-alkali stress. *Acta Ecologica Sinica*, 39 (17): 6349 – 6361. (in Chinese)
- 贾旭梅, 朱燕芳, 王 海, 吴玉霞, 赵 通, 程 丽, 朱祖雷, 王延秀. 2019. 垂丝海棠应对盐碱复合胁迫的生理响应. *生态学报*, 39 (17): 6349 – 6361.
- Ju Lixiang, Lei Xin, Zhao Chengzhi, Shu Huangying, Wang Zhiwei, Cheng Shanhan. 2020. Identification of MYB family genes and its relationship with pungency of pepper. *Acta Horticulturae Sinica*, 47 (5): 875 – 892. (in Chinese)
- 居利香, 雷 欣, 赵成志, 舒黄英, 汪志伟, 成善汉. 2020. 辣椒 MYB 基因家族的鉴定及与辣味关系分析. *园艺学报*, 47 (5): 875 – 892.
- Li Q, Yang A, Zhang W H. 2016. Efficient acquisition of iron confers greater tolerance to saline-alkaline stress in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Experimental Botany*, 67 (22): 6431 – 6444.
- Liu Wei. 2017. Functional research of ethylene response factor ERF4/ERF72 involved in iron deficiency response of apple rootstocks [Ph. D. Dissertation]. Beijing: China Agriculture University. (in Chinese)

- 刘 伟. 2017. 乙烯响应因子 ERF4/ERF72 参与苹果砧木缺铁应答的功能研究[博士论文]. 北京: 中国农业大学.
- Nakashima K, Ito Y, Yamaguchi-Shinozaki K. 2009. Transcriptional regulatory networks in response to abiotic stresses in *Arabidopsis* and grasses. *Plant Physiology*, 149 (1): 88 - 95.
- Palmer C M, Hindt M N, Schmidt H, Clemens S, Guerinot M L. 2013. MYB10 and MYB72 are required for growth under iron-limiting conditions. *PLoS Genetics*, 9 (11): e1003953.
- Qin Yaqi, Hu Guibing, Zhao Jietang. 2020. Studies on *Agrobacterium* rhizogenesis-mediated transformation of *LcMYB1* gene into tobacco leaves. *Acta Horticulturae Sinica*, 47 (4): 635 - 642. (in Chinese)
- 秦雅琪, 胡桂兵, 赵杰堂. 2020. 发根农杆菌介导的荔枝 *LcMYB1* 转化烟草叶片的研究. *园艺学报*, 47 (4): 635 - 642.
- Singh K B, Foley R C, Oñate-Sanchez L. 2002. Transcription factors in plant defense and stress responses. *Current Opinion in Plant Biology*, 5 (5): 430 - 436.
- Sinha S, Gupta M, Chandra P. 1997. Oxidative Stress induced by iron in *Hydrilla verticillata* (Lf) Royle: response of antioxidants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 38 (3): 286 - 291.
- Tian Zhi-guo, Wang Fei, Zhang Wen-e, Zhao Xiu-ming. 2011. Effects of heat stress on growth and physiology of marigold cultivars. *Acta Horticulturae Sinica*, 38 (10): 1947 - 1954. (in Chinese)
- 田治国, 王 飞, 张文娥, 赵秀明. 2011. 高温胁迫对孔雀草和万寿菊不同品种生长和生理的影响. *园艺学报*, 38 (10): 1947 - 1954.
- Wang F P, Xiao F, Zhang J C, Wang F. 2018. MdMYB58 modulates Fe homeostasis by directly binding to the MdMATE43 promoter in plants. *Plant Cell Physiology*, 59 (12): 2476 - 2489.
- Yang Yuyiing, Ren Yiran, Zheng Pengfei, You Chunxiang, Wang Xiaofei, Hao Yujin. 2020. Investigation on *MdMYB2* from apple in response to abiotic stress. *Acta Horticulturae Sinica*, 47 (4): 613 - 622. (in Chinese)
- 杨钰莹, 任怡然, 郑鹏飞, 由春香, 王小非, 郝玉金. 2020. 苹果 *MdMYB2* 基因对非生物胁迫的响应. *园艺学报*, 47 (4): 613 - 622.
- Yao G F, Ming M L, Allan A C, Gu C, Li L T, Wu X, Wu J. 2017. Map-based cloning of the pear gene *MYB114* identifies an interaction with other transcription factors to coordinately regulate fruit anthocyanin biosynthesis. *Plant Journal*, 92 (3): 437 - 451.
- Zhang Huilin, Zhu Wan, Tian Li, Zhang Wei. 2019. Characterization and expression analysis of petunia PhZPT2-12 transcription factor related to cold response. *Acta Horticulturae Sinica*, 46 (8): 1543 - 1552. (in Chinese)
- 张慧琳, 朱 婉, 田 丽, 张 蔚. 2019. 矮牵牛冷响应转录因子 PhZPT2-12 的特性及表达分析. *园艺学报*, 46 (8): 1543 - 1552.
- Zhang Yun, Wang Yi, Xu Xue-feng, Li Tian-zhong, Kong Jin, Han Zhen-hai. 2007. Expression analysis of ferric-chelate reductase gene of *Malus xiaojinensis* Cheng et Jiang. *Plant Physiology Journal*, 43 (1): 57 - 60. (in Chinese)
- 张 芸, 王 忆, 许雪峰, 李天忠, 孔 瑾, 韩振海. 2007. 小金海棠中三价铁螯合物还原酶基因的表达分析. *植物生理学通讯*, 43 (1): 57 - 60.
- Zhou Kaibing, Li Shijun, Yuan Mengling, Yue Kun. 2019. Injuries and the responses on antioxidation of adult mango trees under the treatments of enhanced UV-B radiation. *Acta Horticulturae Sinica*, 46 (7): 1279 - 1289. (in Chinese)
- 周开兵, 李世军, 袁孟玲, 岳 堃. 2019. 芒果成年树在增强 UV-B 辐射处理下的损伤与抗氧化响应. *园艺学报*, 46 (7): 1279 - 1289.