

## 重寄生枝孢菌 SYC63 中 MYB 转录因子鉴定及分析

隋文静, 梅超, 杨俊聪, 范世昌, 李明娇, 李靖\*

西南林业大学生命科学学院, 云南 昆明 650224

隋文静, 梅超, 杨俊聪, 范世昌, 李明娇, 李靖. 重寄生枝孢菌 SYC63 中 MYB 转录因子鉴定及分析[J]. 微生物学通报, 2023, 50(2): 615-631.

SUI Wenjing, MEI Chao, YANG Juncong, FAN Shichang, LI Mingjiao, LI Jing. Genome-wide identification and analysis of the MYB transcription factor family in mycoparasite *Cladosporium* SYC63 strain[J]. Microbiology China, 2023, 50(2): 615-631.

**摘要:**【背景】V-myb 禽成髓细胞瘤病毒癌基因同源物(v-myb avian myeloblastosis viral oncogene homolog, MYB)转录因子广泛存在于真菌中, 在真菌的胁迫响应与致病性中发挥重要功能。枝孢菌(*Cladosporium* sp.)作为一类对锈菌有重寄生作用的真菌, 具有极高的生防潜力, 然而有关其 MYB 转录因子尚未见报道, 对其 MYB 家族转录因子进行鉴定和表达分析, 有助于理解枝孢菌在重寄生过程中发挥的作用。【目的】了解重寄生枝孢菌(*Cladosporium cladosporioides*) SYC63 菌株中 MYB 转录因子家族种类数目及在重寄生过程中发挥的作用。【方法】利用生物信息学方法对其基本特性进行预测, 并结合锈孢子诱导下的表达情况进行分析。【结果】枝孢菌 SYC63 中包含 22 个 MYB 转录因子家族基因, 所有 MYB 转录因子均含有 SANT 结构域, 分子量为 28.26–239.05 kDa, 等电点(isoelectric point, pI)为 4.57–10.15, 均为亲水蛋白; 大多定位在细胞核, 共有 1R-MYB 和 2R-MYB 两类, 均含有响应病原菌的启动子结合位点。经锈孢子诱导后, 大多 *SycMYBs* 下调表达, 只有 6 个基因上调表达, 筛选出 8 个表达量或差异倍数较高的基因进行 RT-qPCR, 验证结果显示不同时间处理下出现不同的表达变化趋势, 其中 *SycMYB6* 基因在侵染过程的表达水平持续升高。【结论】MYB 转录因子可能在枝孢菌 SYC63 重寄生过程的初期发挥响应侵染和抗逆的作用, 这为深入探究 MYB 转录因子在真菌中发挥的作用和枝孢菌重寄生机制提供理论依据。

**关键词:** 禽成髓细胞瘤病毒癌基因同源物; 枝孢菌; 生物信息学; 转录组; 重寄生

资助项目: 云南省农业基础研究专项面上项目(202101BD070001-056); 生物学质量工程项目(503190106)

This work was supported by the Yunnan Agricultural Basic Research Joint Special Area Project (202101BD070001-056) and the Biology Quality Engineering Project (503190106).

\*Corresponding author. E-mail: lijingcas@163.com

Received: 2022-05-22; Accepted: 2022-09-16; Published online: 2022-11-09

# Genome-wide identification and analysis of the MYB transcription factor family in mycoparasite *Cladosporium* SYC63 strain

SUI Wenjing, MEI Chao, YANG Juncong, FAN Shichang, LI Mingjiao, LI Jing\*

Life Science College, Southwest Forestry University, Kunming 650224, Yunnan, China

**Abstract:** [Background] V-myb avian myeloblastosis viral oncogene homolog (MYB) transcription factors, which are ubiquitous in fungi, are vital in stress response and pathogenicity of the microbes. *Cladosporium* sp., parasitizing rust fungi, is a potential candidate for biocontrol. However, no report of its MYB transcription factors is available. The identification and expression analysis of its MYB transcription factor family are of great significance for understanding role of *Cladosporium* sp. in mycoparasitism. [Objective] To clarify the number of MYB transcription factors in *Cladosporium cladosporioides* SYC63 strain and the roles in the mycoparasitism. [Methods] We predicated fundamental characteristics of the MYB transcription factors with bioinformatics methods and analyzed the expression of them in the presence of aecidiospores. [Results] *C. cladosporioides* SYC63 harbors 22 MYB transcription factor genes and all the MYB transcription factors contain the SANT domain with molecular weight of 28.26–239.05 kDa and pI of 4.57–10.15. They are all hydrophilic proteins and mostly located in the nucleus. These genes can be classified to 1R-MYB and 2R-MYBs, which contain promoter binding sites for the response to pathogens. After rust spore induction, most *SycMYBs* were down-regulated, and only six genes were up-regulated. Eight genes with high expression or great fold change were selected for RT-qPCR, and the results suggested different change trends of expression after the induction for different time. Among the eight genes, *SycMYB6* kept at a high level during the infestation. [Conclusion] MYB transcription factors play a role in the response to infestation and stress resistance of strain SYC63 during the mycoparasitism. The result is expected to lay a theoretical basis for further exploring the role of MYB transcription factor family in fungi and the mycoparasitism mechanism of *Cladosporium* sp..

**Keywords:** MYB; *Cladosporium* sp.; bioinformatics; transcriptomics; mycoparasitism

枝孢属(*Cladosporium*)真菌在自然界分布广泛,具有内生<sup>[1]</sup>、寄生<sup>[2]</sup>、重寄生<sup>[3]</sup>等多种生活方式,并且能够产生丰富的天然次级代谢产物<sup>[4]</sup>。枝孢菌虽然能导致葡萄<sup>[5]</sup>、芒果<sup>[6]</sup>、朱缨花<sup>[7]</sup>等植物患病,但是具有重寄生能力的枝孢菌也能抑制植物锈病发生或减轻症状<sup>[8-9]</sup>,被认为具有生防菌株潜力。枝孢菌主要通过直接接触穿透宿主菌孢子分泌毒素和胞壁降解酶发挥重寄生作用,

并大量产孢完成自身生命周期<sup>[10]</sup>。枝孢菌已经克服寄主障碍,对香蕉枯萎病菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*)<sup>[11]</sup>、稻瘟病菌(*Magnaporthe oryzae*)、褐斑病菌(*Cochliobolus miyabeanus*)和鞘腐病菌(*Sarocladium oryzae*)<sup>[12]</sup>等均有防治作用,但有关其重寄生作用机制尚不明确。

转录因子(transcription factors, TFs)又称为

反式作用因子, v-myb 禽成髓细胞瘤病毒癌基因同源物 (v-myb avian myeloblastosis viral oncogene homolog, MYB) 转录因子家族是真核生物中最大的转录因子家族之一, 有高度保守的 DNA 结合域——SANT 结构域<sup>[13]</sup>。植物中 MYB 转录因子最多由 4 个不重复氨基酸序列(R) 组成, 并且 R 的数目决定了 MYB 转录因子与 DNA 的结合能力<sup>[14]</sup>。根据重复序列数目 MYB 转录因子主要可以分为: 含有 1 个 R3 或含有一个 R1/2, R2 和 R3 组合, R1、R2、R3 组合, 以及 R1、R2、R3、R1/2 组合, 在真菌中 MYB 转录因子的分类尚不明确<sup>[14-15]</sup>, 每个 R 中第 3 个  $\alpha$  螺旋结构可以特异识别 DNA 序列<sup>[16]</sup>。MYB 转录因子在植物生长发育及生物和非生物胁迫过程中发挥了重要作用, 尤其是拟南芥中 MYB 转录因子蛋白功能和调节的相关研究, 为预测 MYB 转录因子在植物中的普遍功能奠定了基础。

较动植物而言, 目前有关真菌 MYB 转录因子的报道较少, 但是其在真菌生长、产孢、致病等方面发挥重要作用<sup>[17]</sup>。禾谷镰刀菌(*Gibberella zeae*) 中的 MYB 转录因子 MYT1 和 MYT2 参与调控细胞周期影响菌丝生长<sup>[18-19]</sup>。构巢曲霉(*Aspergillus nidulans*) 中 FibD 蛋白 N 端与 Myb 结构域高度同源, FibD 的缺失会影响子囊孢子的形成, 但是不影响孢子活力<sup>[20]</sup>。与防御真菌相关的 MYB 转录因子在生物防治中具有广泛应用, MYB 转录因子在条锈菌胁迫下大量表达, 增强了小麦抗锈病能力<sup>[21]</sup>。Ji 等发现在杨树叶枯病致病菌链格孢(*Alternaria alternata*) 发酵液胁迫下棘孢木霉的 *TasMYB36* 基因及其他应激反应基因表达明显上调, 并使患病山新杨患病叶片情况明显好转<sup>[22]</sup>。由此可见, *TasMYB36* 是一个重要的防御反应基因, 可以提高宿主对生物性胁迫的抵抗力。

本课题组前期对一株重寄生枝孢菌 SYC63

进行了基因组测序, 发现该菌株存在大量编码胞壁降解酶的基因, 并且毒素也在重寄生过程中发挥重要作用<sup>[23]</sup>。本研究对其 MYB 转录因子家族基因进行生物信息学分析, 并分析在病原菌诱导条件下 MYB 家族的表达变化, 以期为生防菌株的开发及探究重寄生菌中 MYB 转录因子家族的功能、分子机制提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

枝孢菌 (*Cladosporium cladosporioides*) SYC63 分离自昆明石楠叶锈病锈孢子堆, 保存于西南林业大学生物化学教研室。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 基因挖掘与鉴定

本课题组前期已经测得菌株 SYC63 基因组 (GenBank 登录号为 GCA\_022457075.1) 已上传 NCBI<sup>[23]</sup>。根据通用数据库注释结果筛选出 MYB 转录因子家族, 从 Pfam 数据库 (<http://pfam.xfam.org/>) 下载 MYB 保守结构域 PF00249 序列<sup>[24]</sup>, 利用 NCBI 的 BLASTp 对 SYC63 菌株基因组进行检索, 最终获得候选序列。合并两部分结果并删除重复部分, 在基因组中获得基因序列及编码氨基酸序列, 并在 SMART (<https://smart.embl.de/>) 网站预测 MYB 转录因子结构域<sup>[25]</sup>, 用 IBS 软件<sup>[26]</sup>进行绘图并美化。

#### 1.2.2 MYB 蛋白基本理化性质、信号肽及亚细胞定位预测

使用在线软件 ExPASy 的工具 ProtParam (<https://web.expasy.org/protparam/>)<sup>[27]</sup> 对 SYC63 的 MYB 转录因子的氨基酸数目、分子量、等电点、亲水系数、脂溶性、稳定性进行分析<sup>[13]</sup>; 利用在线软件 SignalP (SignalP-5.0-Services-DTU Health Tech) 对 MYB 转录因子进行信号肽预测; 利用在线软件 WOLF PSORT ([Tel: 010-64807511; E-mail: tongbao@im.ac.cn; <http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>](https://www.</a></p></div><div data-bbox=)

genscript.com/wolf-psort.html?src=leftbar)对 MYB 转录因子进行亚细胞定位预测<sup>[28]</sup>。

### 1.2.3 MYB 家族基序与基因结构预测及染色体定位分析

使用软件 DNAMAN 对 MYB 转录因子保守结构域区域进行序列比对; 使用在线预测软件 MEME (<https://meme-suite.org/meme/index.html>) 对 MYB 家族进行保守基序预测<sup>[29]</sup>; 根据注释文件并利用 TBtools 的 Gene Structure 对基因结构可视化和蛋白保守基序进行美化<sup>[30]</sup>。

### 1.2.4 MYB 蛋白二级结构、三级结构预测

使用在线工具 SOPMA ([https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa\\_automat.pl?page=npsa\\_sopma.html](https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=npsa_sopma.html)) 进行 MYB 转录因子二级结构预测<sup>[31]</sup>, SWISSMODEL (<https://swissmodel.expasy.org/interactive>) 进行三维结构预测<sup>[32]</sup>。

### 1.2.5 MYB 基因染色体定位

根据北京百迈客生物科技有限公司提供的基因组文件, 使用 TBtools 的 Gene Distribution 功能对基因 *SycMYBs* 进行染色体定位<sup>[30]</sup>。

### 1.2.6 MYB 基因启动子顺式作用元件预测

在基因组中提取 22 个 MYB 转录因子基因上游 2 000 bp 的序列, 并通过在线预测网站 PlantCare (<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 进行启动子顺式作用元件预测<sup>[33]</sup>, 从预测结果筛选病原菌诱导型及重寄生相关的启动子, 用 TBtools 软件进行绘图<sup>[30]</sup>。

### 1.2.7 MYB 家族序列系统进化

根据 MYB 家族的基本分类方法, 下载已发表菌株禾谷镰刀菌 (*Fusarium graminearum* PH-1)、棘孢木霉 (*Trichoderma asperellum* CBS433.97) 和深绿木霉 (*Trichoderma atroviride* IMI 206040) 的 MYB 转录因子家族蛋白序列, 使用软件 MEGA 11 进行序列比对后用邻接法构建系统发育树<sup>[34]</sup>, 在 MEME 网站预测 4 株真菌的保守基序<sup>[29]</sup>, 并用 iTOL (<https://itol.embl.de/upload.cgi>) 在线软件进行美化<sup>[35]</sup>。

### 1.2.8 锈孢子诱导下 MYB 基因表达分析

使用西南林业大学校园内收集的石楠叶锈病锈孢子对菌株 SYC63 进行诱导, 参考周航等<sup>[36]</sup>处理锈孢子的方法, 将二代培养的菌丝接种在 PSKA 液体培养基<sup>[37]</sup>中, 28 °C、150 r/min 培养 24 h, 用 2.5 g/L 的锈孢子分别诱导 0、24、48 和 72 h, 交由生工生物工程(上海)股份有限公司进行转录组测序。筛选出 MYB 转录因子锈孢子诱导下(S 组)与对照组(C 组)表达量, 取以 2 为底的对数值, 用 TBtools 软件的 Hotmep 程序进行分析<sup>[30]</sup>。

使用 Primer Premier 5.0 软件设计引物(表 1), 以内转录间隔区(internal transcribed spacer, ITS)序列为内参基因进行 RT-qPCR 实验, 用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  方法计算不同处理中基因 *SycMYBs* 的相对表达量, 使用 SPSS 26.0 软件进行单因素方差分析。

表 1 荧光定量 PCR 引物

Table 1 Primers used for RT-qPCR

Primers name	Primers sequence (5'→3')
ITS-F	GATGAAGAACGCAGCGAAAT
ITS-R	GCGAGGCTTGAGTGGTGA
<i>SycMYB1</i> -F	GGAGCGAGATTGCGAAGAC
<i>SycMYB1</i> -R	GGCTTGCCACTTTCTGC
<i>SycMYB2</i> -F	ACACCCGAGGATGATTCCTAC
<i>SycMYB2</i> -R	GCGGTCGTGTTTCGTAATCTT
<i>SycMYB4</i> -F	GGCAACGACCAGTCAATCTC
<i>SycMYB4</i> -R	GGGCTCTTCCTTGCTTGTC
<i>SycMYB6</i> -F	CAGTCAACGCCGCTTCTC
<i>SycMYB6</i> -R	AGAAGGATGTGCCGATTGA
<i>SycMYB10</i> -F	TATCGCCAGAGCAAGTCCG
<i>SycMYB10</i> -R	CGCAGAAGTAACGACGGGA
<i>SycMYB12</i> -F	GACAGCAATCTGACGAGCCT
<i>SycMYB12</i> -R	TGCTGGAACCTCGTAGTCGCT
<i>SycMYB20</i> -F	CTTTGCCATTGACGCTGAC
<i>SycMYB20</i> -R	TGTCCTGCTCCTCAGTCCAC
<i>SycMYB22</i> -F	AGACCTCACGAAACGCTTAG
<i>SycMYB22</i> -R	TGGTGCCTGCCTTTGGAT

## 2 结果与分析

### 2.1 MYB 蛋白结构域、基本理化性质及亚细胞定位预测结果

共挖掘到 22 个 MYB 转录因子基因, 图 1 中所有 MYB 转录因子均含有 MYB 保守结构域, 此外还有 6 个不同功能域, SycMYB2、SycMYB3、SycMYB7、SycMYB8、SycMYB11、SycMYB12 和 SycMYB21 均含有两个保守结构域属于 2R-MYBs, 其余均属于 1R-MYBs 或 MYB-related。由图 1 可见, SycMYB3、SycMYB5、SycMYB6、SycMYB7、SycMYB10、SycMYB14、SycMYB15、SycMYB17、SycMYB19、SycMYB20 和 SycMYB22 这 11 个 MYB 转录因子的保守结构域位于 N 端, SycMYB1、SycMYB2、SycMYB4、SycMYB11、SycMYB12、SycMYB13、SycMYB18 和

SycMYB21 这 8 个转录因子的保守结构域靠近 C 端, 可能起到抑制调控的作用<sup>[38]</sup>。

预测结果(表 2)显示, SYC63 菌株中 MYB 转录因子氨基酸数目为 172–2 152 aa, 最长的序列为 SycMYB12, 最短的序列是 SycMYB17; 分子量大小为 20.17–239.05 kDa; 理论 pI 值范围为 4.57–10.15, 碱性蛋白占比为 59%; 只有 SycMYB20 一个稳定蛋白; 脂肪族指数范围为 42.81–73.73, 均是亲水蛋白; 20 个 MYB 蛋白定位在细胞核, SycMYB17 和 SycMYB22 定位在线粒体; 亲水性系数均值为负值, 为亲水蛋白。

### 2.2 MYB 基因结构、蛋白基序与染色体定位

序列比对与基序预测结果(图 2)显示, 所有 MYB 转录因子均含有 motif 1 或 motif 2, 此外, SycMYB8、SycMYB9 和 SycMYB19 还含有 motif 3。其中 SycMYB2、SycMYB8 和 SycMYB14

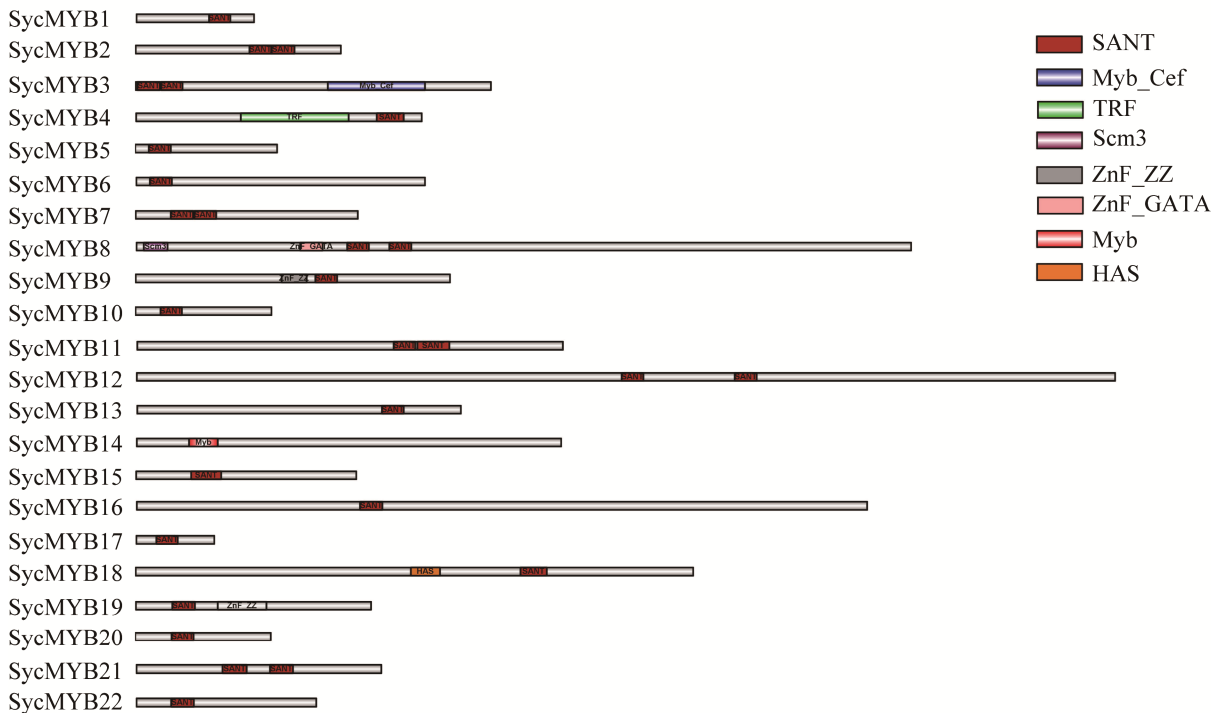


图 1 枝孢菌 MYB 转录因子保守结构域预测

Figure 1 Domain prediction of MYB TFs from *Cladosporium cladosporioides*.

表2 MYB 转录因子分析

Table 2 Analysis of MYB TFs

Gene ID	Number of amino acid (aa)	Molecular weight (kDa)	Theoretical pI	Instability index	Aliphatic index	Hydrophilicity index	Subcellular localization	GO annotation
SycMYB1	259	28.86	9.35	57.63	53.55	-1.013	nucl	CC
SycMYB2	452	50.43	5.93	67.31	54.45	-0.859	nucl	CC
SycMYB3	782	86.53	6.78	43.76	71.55	-0.821	nucl	BP
SycMYB4	629	70.04	7.42	62.54	68.19	-0.699	nucl	MF
SycMYB5	313	34.77	8.57	62.38	61.92	-0.837	nucl	BP
SycMYB6	636	70.62	4.60	62.53	65.27	-0.920	nucl	MF
SycMYB7	489	56.13	9.66	85.14	52.88	-0.957	nucl	CC
SycMYB8	1 704	186.47	6.02	58.04	63.65	-0.808	nucl	BP
SycMYB9	692	76.15	4.88	47.93	65.84	-0.757	nucl	MF
SycMYB10	300	33.00	9.96	73.01	52.17	-0.810	nucl	CC
SycMYB11	937	103.70	8.20	61.86	59.47	-1.029	nucl	BP
SycMYB12	2 152	239.05	9.45	77.74	43.88	-1.167	nucl	BP
SycMYB13	712	77.00	6.01	60.40	52.39	-0.979	nucl	CC
SycMYB14	934	101.16	4.57	54.54	68.44	-0.745	nucl	MF
SycMYB15	485	54.73	9.70	53.52	73.73	-0.906	nucl	BP
SycMYB16	1 607	175.67	6.29	63.55	54.24	-1.052	nucl	BP
SycMYB17	172	20.17	10.15	52.99	70.87	-0.769	mito	MF
SycMYB18	1 227	137.08	8.80	59.50	56.32	-0.995	nucl	BP
SycMYB19	518	58.27	6.96	41.67	67.28	-0.771	nucl	MF
SycMYB20	299	33.34	9.35	35.96	42.81	-1.439	nucl	MF
SycMYB21	539	59.53	9.18	57.43	62.84	-0.887	nucl	BP
SycMYB22	396	44.59	8.81	45.09	69.82	-0.814	mito	BP

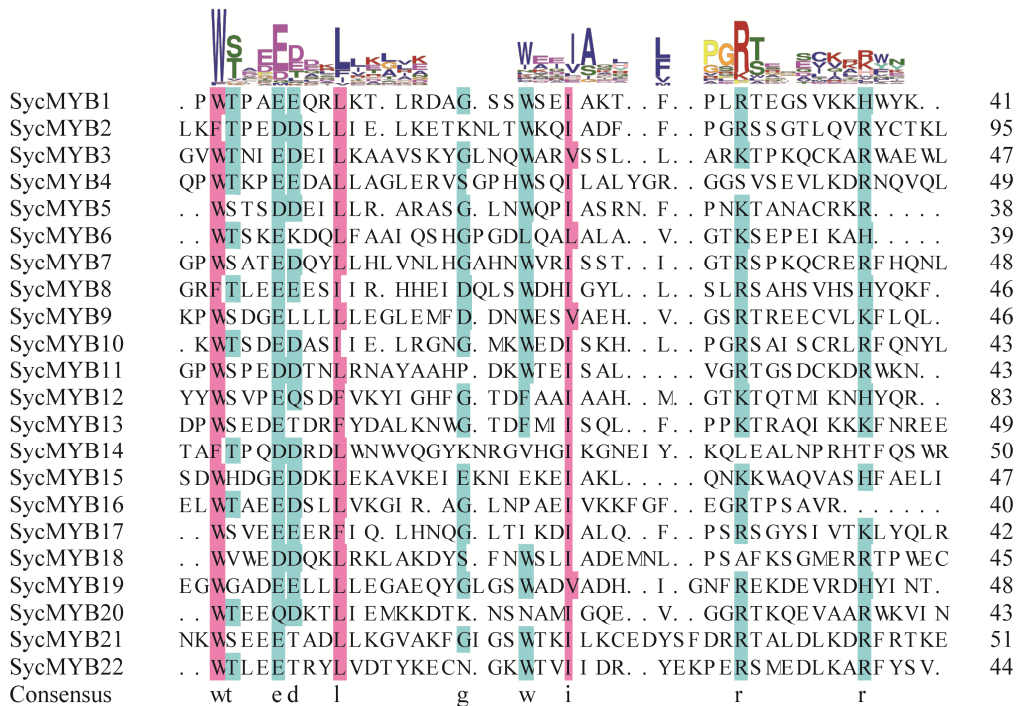


图2 枝孢菌 MYB 转录因子序列比对

Figure 2 Amino acid sequences alignment of MYB TFs from *Cladosporium cladosporioides*.

中第 1 个色氨酸被取代为苯丙氨酸, 是典型 R3 的结构; SycMYB7 中第 1 个色氨酸被替换为异亮氨酸(脂肪族类), 可能失去结合 DNA 的能力。

图 3 显示, 有 12 条基因序列不含有内含子, 5 条基因序列含有 2 个外显子, 2 条基因序列含有较多的 3 个外显子, 2 条基因序列含有 4 个外显子, SycMYB1 含有 5 个外显子, 结构较为复杂。Motif 1 和 motif 2 是 MYB 转录因子的保守区域, 但是每条序列含有的数目不同可能表

示序列中的保守区数目不同, 而含有额外 motif 3 的序列可能发挥不同的功能, 这说明枝孢菌 SYC63 中 MYB 转录因子存在高度保守的序列, 但是不同分类下的 MYB 序列也具有多样性。

如图 4 所示, SycMYBs 基因分布在 12 条染色体上, 主要集中在 3 号染色体上, 其次是 2 号、6 号和 11 号染色体, 22 个 MYB 基因未出现串联重复。

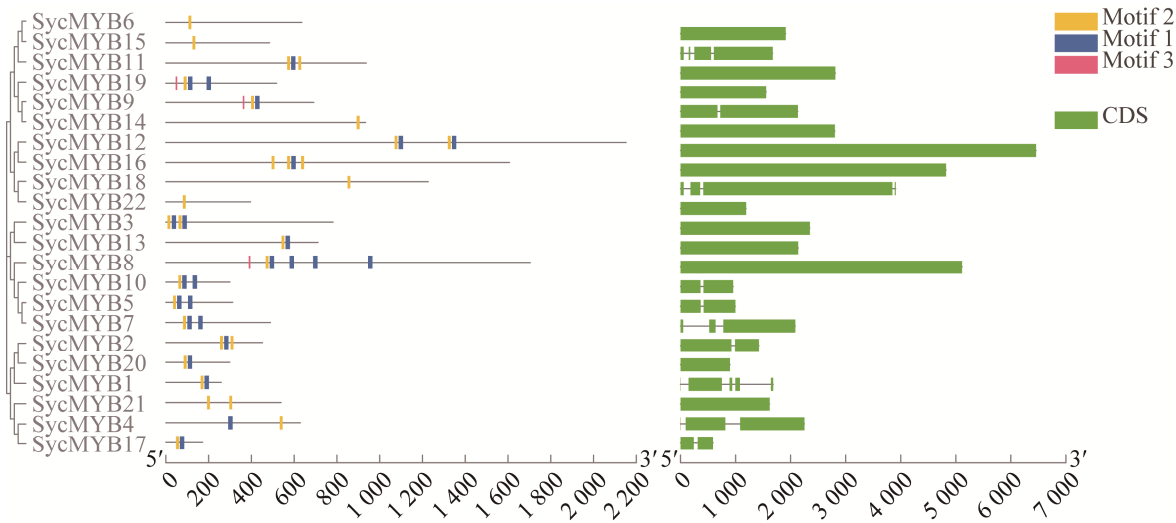


图 3 枝孢菌 MYB 转录因子系统进化、蛋白基序与基因结构预测 Motif 1: WEEIAQHLPGRTEQECKKRYN; Motif 2: WSAEEDDKLJKLVK; Motif 3: YDLCGTCY; CDS: 编码蛋白质中氨基酸的序列  
 Figure 3 Phylogentic tree, protein motifs and gene structure prediction of MYB TFs from *Cladosporium cladosporioides*. Motif 1: WEEIAQHLPGRTEQECKKRYN; Motif 2: WSAEEDDKLJKLVK; Motif 3: YDLCGTCY; CDS: Sequence coding for aminoacids in protein.

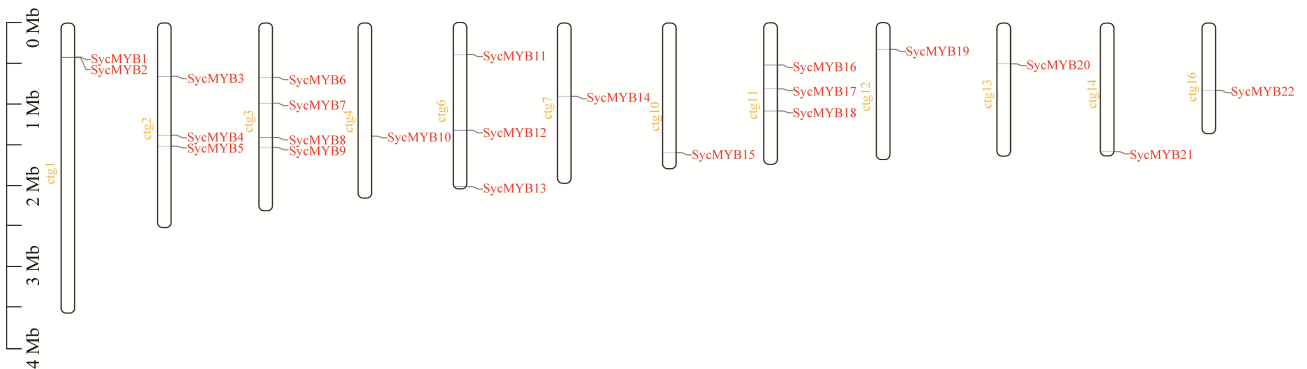


图 4 基因 SycMYBs 在染色体上的分布  
 Figure 4 The distribution of gene SycMYBs on chromosomes.

### 2.3 MYB 蛋白二级、三级结构预测分析

菌株 SYC63 的二级结构预测结果显示, 各序列二级结构的各类型占比差异较大, 预测结果与结构域预测结果基本一致, 1R-MYBs/MYB-related 与 2R-MYBs 在二级结构各组成部分占比未表现出分类差异。22 个 MYB 转录因子中  $\alpha$ -螺旋及无规则卷曲占比很高, 2R-MYBs 中 SycMYB3 的  $\alpha$ -螺旋占比最高(57.93%), SycMYB21 无规则卷曲占比最高,

达到了 75.14%; 1R-MYBs 中 SycMYB17 的  $\alpha$ -螺旋占比最高(49.42%), SycMYB1 的无规则卷曲占比最高(70.27%); 而  $\beta$ -折叠和延伸链占比最高仅在 10%左右。二级结构预测结果显示, MYB 转录因子主要由  $\alpha$ -螺旋和无规则卷曲组成, 此外还有  $\beta$ -折叠及延伸链, 并且  $\alpha$ -螺旋与  $\beta$ -折叠的排列交替可能形成 MYB 中的 R, 即螺旋-转角-螺旋(helix-turn-helix, HTH)结构(图 5)。

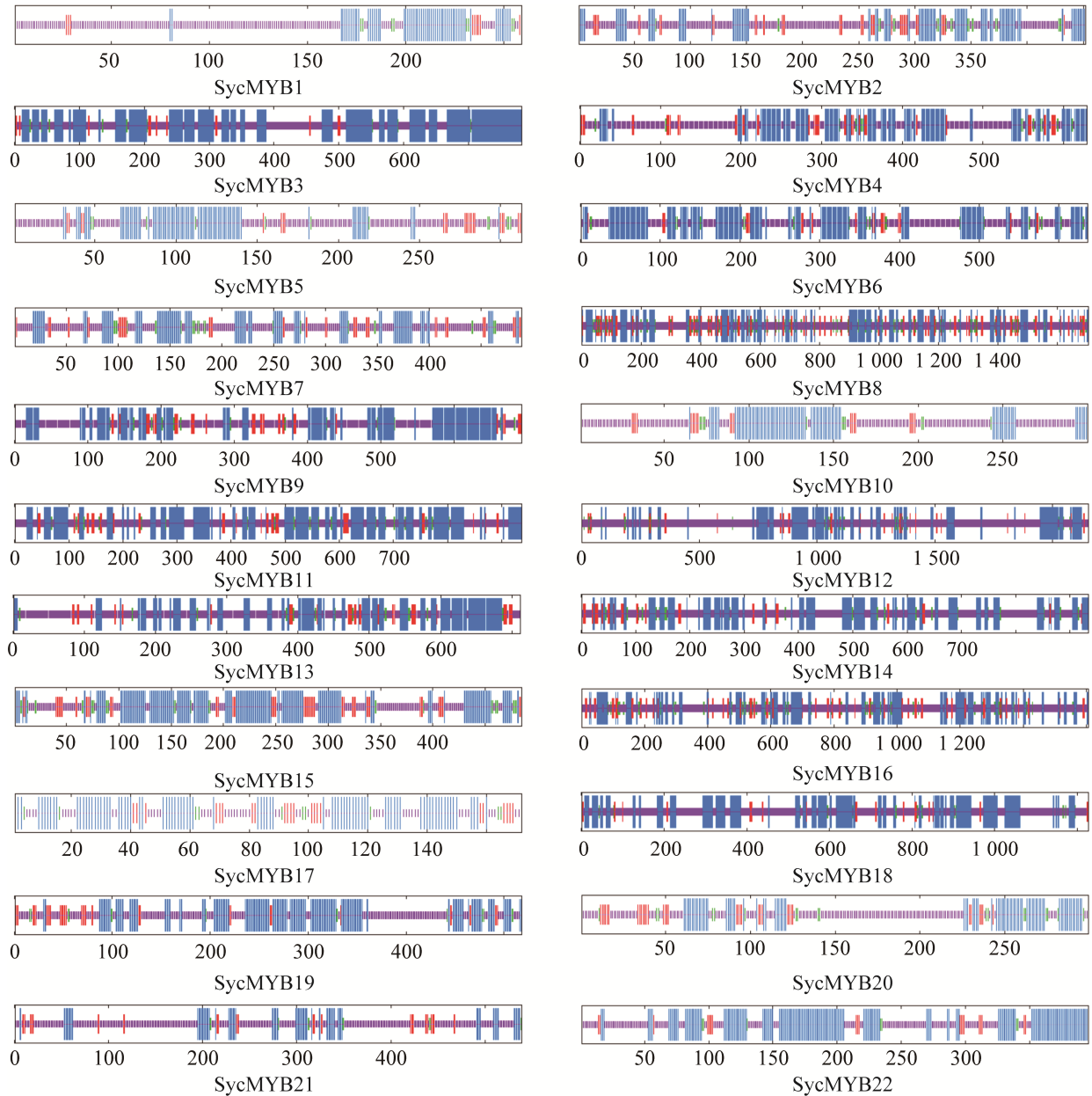


图 5 枝孢菌 MYB 转录因子二级结构预测

Figure 5 Protein secondary structure prediction of *Cladosporium cladosporioides* MYB TFs secondary structure.



SWISSMODEL 预测结果见图 6, 所有 MYB 转录因子模型均含有 HTH 结构, 与二级结构预测一致, 其中有 3 个间隔规则的色氨酸(或疏水)残基在这一结构疏水核心, 每个 HTH 结构的  $\alpha$  螺旋可以与 DNA 分子的大沟结合, 特异识别 DNA 序列<sup>[16]</sup>。图 6 中显示 SycMYB20 只有 1 个 R 组成, 是典型

的 MYB 转录因子结构; SycMYB8 被预测为 R2R3-MYB 结构, SycMYB11 的 C 端形成了独特的  $\beta$ -发夹构象; SycMYB21 含有 3 个 R 结构, 与二级结构预测结果有所差异。转录因子三级结构间差异较大, 部分还含有金属离子配体, 如  $Zn^{2+}$ 、 $K^+$  和  $Ca^{2+}$  等, 可能与其各自具有不同功能相关。

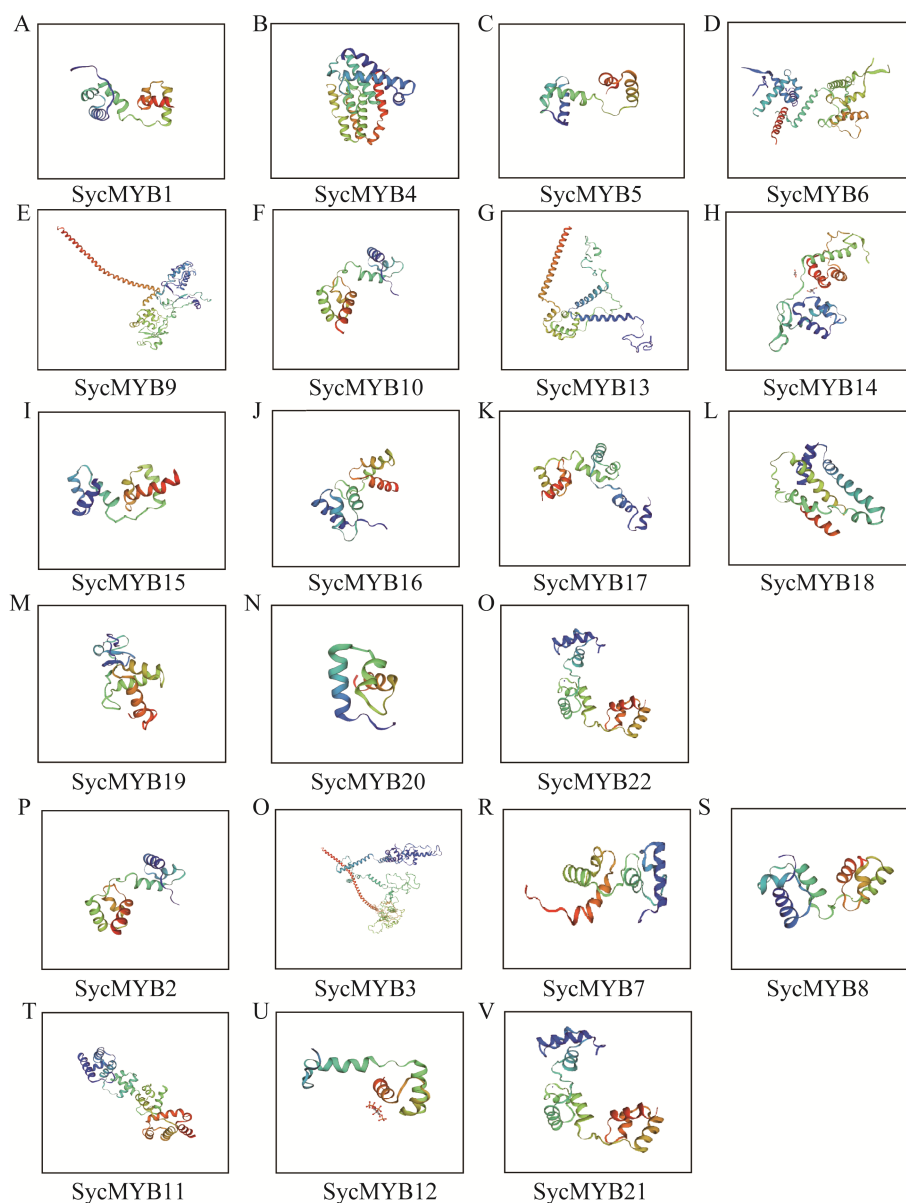


图 6 枝孢菌 MYB 转录因子三级结构预测 A-O: 1R-MYBs 和 MYB-related; P-V: 2R-MYBs  
 Figure 6 Protein tertiary structure prediction of *Cladosporium cladosporioides* MYB TFs. A-O: 1R-MYBs and MYB-related. P-V: 2R-MYBs.

## 2.4 MYB 启动子顺式作用元件预测分析

22 个 MYB 基因中共含有 38 种顺式作用元件, 图 7 中包括主要的 CAAT-box、TATA-box, 以及 W-box、as-1、G-box、H-box、AP-2、L-box、P-box 和 S-box 这 8 个应答病原菌的启动子, 所有 MYB 基因均含有 MYB 识别元件, 此外还有大量环境信号因子响应元件。H-box 和 L-box 分别只存在于 *SycMYB1* 和 *SycMYB3* 中。菌株 SYC63 中 MYB 转录因子基因的 as-1、MYC、G-box、ABRE、TGACG-motif 和 CGTCA-motif 这 6 个顺式作用元件出现明显富集, 说明 SYC63 菌株中 MYB 转录因子基因对真菌可能均有应答反应, 可能参与响应环境变化和真菌侵染或毒素胁迫。此外, MYB 转录因子基因上游还含有与其识别与结合相关的顺式作用元件, 说明 MYB 转录因子之间可能存在互相调控。

## 2.5 MYB 家族进化关系

将 *SycMYBs* 与已报道的禾谷镰刀菌<sup>[21]</sup>和木

霉菌<sup>[39]</sup>中 MYB 转录因子序列构建系统进化树, 结果如图 8 所示, 已报道的木霉中 *TasMYB27* 和 *TasMYB36* 在本研究中编号为 *TasMYB9* 和 *TasMYB10*。 *F. graminearum*、*T. asperellum* 和 *T. atroviride* 分别含有 17、14 和 13 个 MYB 转录因子基因, 均少于菌株 SYC63 中含有的 MYB 转录因子基因数目。由图 7 可见, 在 4 株真菌中 MYB 转录因子家族的分类较清晰, 枝孢菌中 MYB 转录因子家族共分布在 17 个分支上, 有 15 条 *SycMYB* 转录因子序列与 3 株已知菌株进化关系保守; 同一分支上序列的保守基序类型、数目及分布位置基本相同, 在各分支之间又存在明显差异。在分支 I 中 *SycMYB22* 序列只含有 motif 2; *SycMYB11* 较分支 VII 中其他序列多了 1 个靠近 C 端的 motif 10; *SycMYB6* 和 *SycMYB16* 虽然同在分支 XIII, 但是 *SycMYB16* 氨基酸数目远多于 *SycMYB6*, 在分支 XV 中也有这种情况; 分支 XVI 中的 *SycMYB5* 较其他序列相比缺少 motif 1。



图 7 枝孢菌 MYB 转录因子顺式作用元件预测

Figure 7 Cis-acting element prediction of *Cladosporium cladosporioides* MYB TFs.

有 4 条序列与已知功能氨基酸序列亲缘关系较近, 在功能上也可能有相似的作用, SycMYB5 与 MYT3、SycMYB12 与 MYT2、SycMYB4 与 TasMYB9 分别处在同一分支, SycMYB10 与 TasMYB10 和 MYT1 处在同一分支, 这几个基因已被证实参与真菌产毒素的合成途径, 因此初步推测菌株 SYC63 中 SycMYB4、SycMYB5、SycMYB10 和 SycMYB12 可能参与调节枝孢菌产毒途径。SycMYB6 和 SycMYB16, SycMYB8 和 SycMYB17, SycMYB15 和 SycMYB20 分别单独聚成一支, 与 3 株已知菌株的进化关系较远, 这表示枝孢菌中的这些基因可能有其特有的功能。

## 2.6 锈孢子诱导 MYB 基因表达结果

经锈孢子诱导后, 22 个 MYB 转录因子基因全部表达, 实验组与对照组表达量情况存在差异, 图 9 中大部分基因下调表达, SycMYB1 在 0-24 h 内表达量下降, 在 24 h 后表达量上升, 可能是由于环境因素影响导致其表达量先下降, 后在锈孢子诱导下表达量上升; SycMYB2、SycMYB6、SycMYB10、SycMYB20、SycMYB22 在 0-48 h 内表达量上调, 然后在 48-72 h 内表达明显下调, 有受诱导表达变化的趋势, 这 5 个基因可能在枝孢菌侵染前期起到调控作用; SycMYB4、SycMYB5、SycMYB7、SycMYB8 和

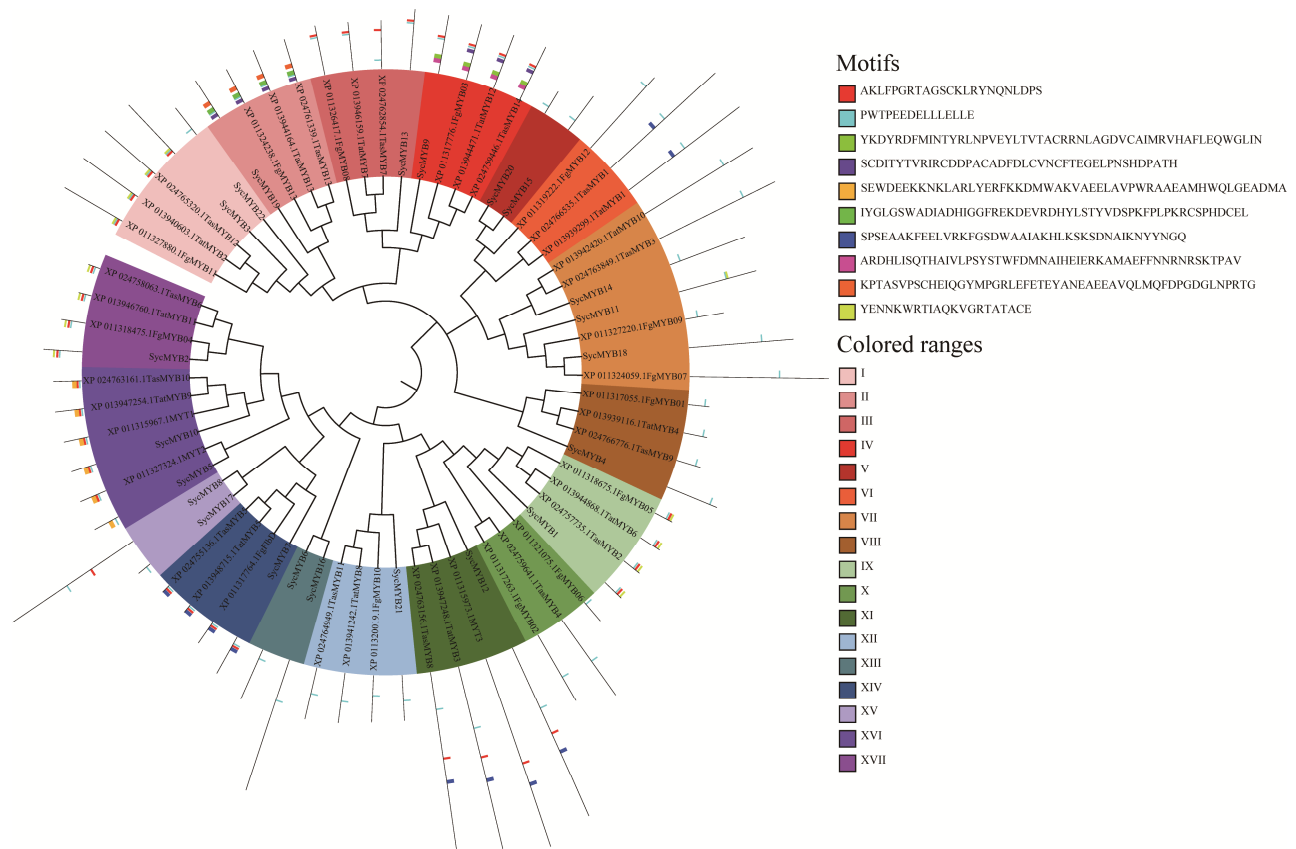


图 8 枝孢菌与禾谷镰刀菌(*Fusarium graminearum* PH-1)、棘孢木霉(*Trichoderma asperellum* CBS433.97)和深绿木霉(*Trichoderma atroviride* IMI 206040) MYB 转录因子蛋白序列进化分析 Syc: 枝孢菌 SYC63; Fg: 禾谷镰刀菌 PH-1; Tas: 棘孢木霉 CBS433.97; Tat: 深绿木霉 IMI 206040

Figure 8 MYB FTs from *Cladosporium cladosporioides*, *Fusarium graminearum* PH-1, *Trichoderma asperellum* CBS433.97, *Trichoderma atroviride* IMI 206040 were analyzed by evolutionary. Syc: *Cladosporium cladosporioides* SYC63; Fg: *Fusarium graminearum* PH-1; Tas: *Trichoderma asperellum* CBS433.97; Tat: *Trichoderma atroviride* IMI 206040.

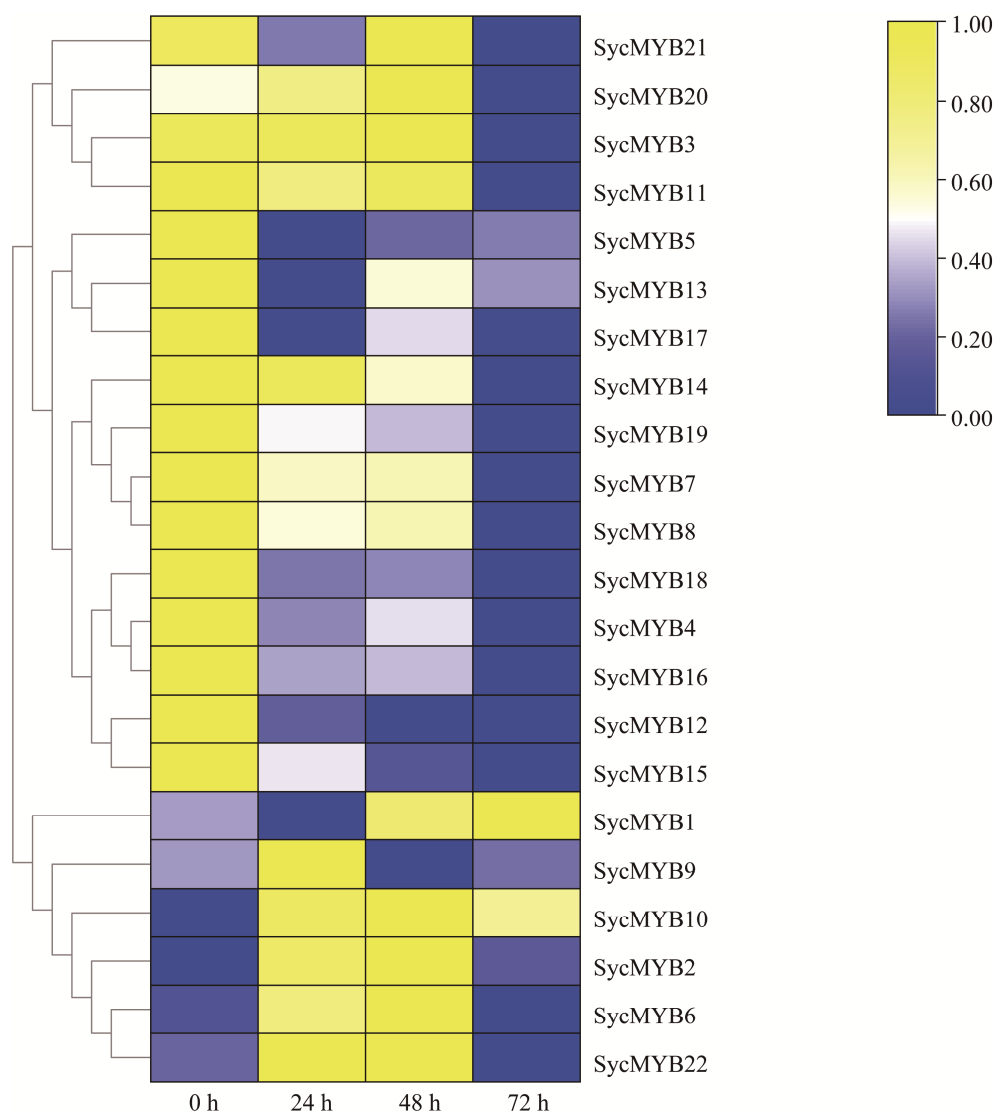


图9 *SycMYBs* 在锈孢子诱导下的表达模式

Figure 9 Expression pattern of *SycMYBs* under rust spore induction.

*SycMYB12*–*SycMYB19* 这 12 个基因在诱导过程中均出现下调表达; *SycMYB3* 和 *SycMYB11* 在 0–48 h 表达变化不明显, 在 48–72 h 才出现下调表达的情况。

根据 *SycMYBs* 在锈孢子壁诱导不同时间的差异表达情况, 筛选出 8 个表达量或表达倍数差异较高的 MYB 转录因子基因进行 RT-qPCR 进一步验证。结果显示, 图 10 中的 8 个基因表达趋势与转录组分析结果存在差异, 其中 *SycMYB6* 和 *SycMYB20* 与转录组结果基本一致。除 *SycMYB4* 外,

其余 7 个基因与未处理组表达均有显著差异, *SycMYB6* 经诱导后在 0–72 h 内持续上调表达, 72 h 时表达量是未经处理的 4.11 倍; *SycMYB12* 在 0–48 h 内上调表达, 在 48–72 h 内下调表达; *SycMYB1*、*SycMYB2*、*SycMYB10* 和 *SycMYB20* 表达趋势一致, 并均在 48 h 出现峰值, 只有 *SycMYB20* 相较于对照组上调表达。其中 *SycMYB1*、*SycMYB2*、*SycMYB12* 保守结构域靠近 C 端抑制调控, 因此, *SycMYB1* 和 *SycMYB2* 下游基因可能上调表达, 而 *SycMYB12* 下游基因可能会被抑制表达。

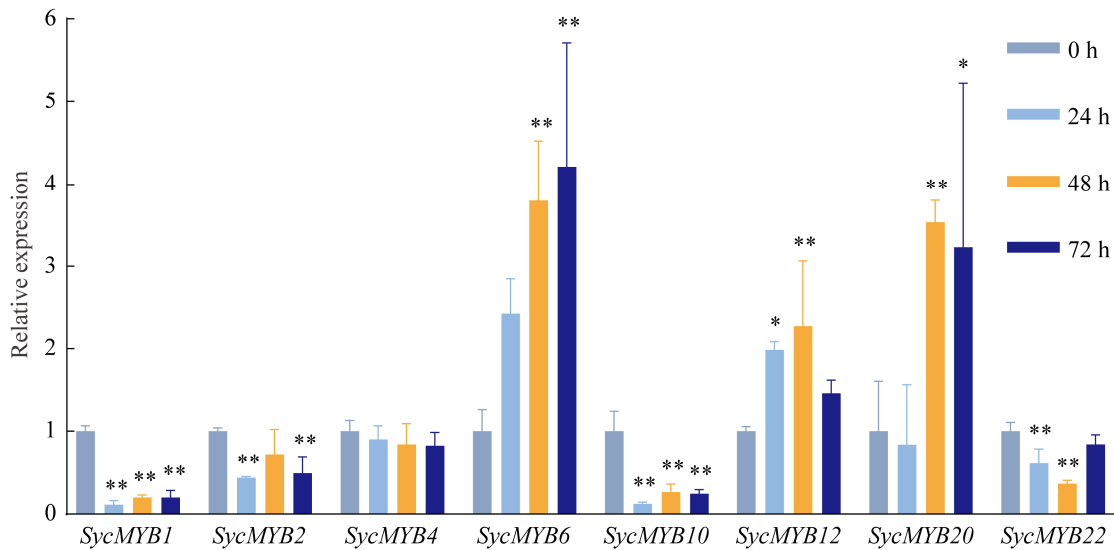


图 10 *SycMYBs* 在锈孢子壁诱导下的相对表达量 内参基因: *ITS*;  $n=3$ ; \*:  $0.01 < P \leq 0.05$ ; \*\*:  $P \leq 0.01$   
Figure 10 Relative expression levels of *SycMYBs* under rust spore induction. Reference gene: *ITS*;  $n=3$ ; \*:  $0.01 < P \leq 0.05$ ; \*\*:  $P \leq 0.01$ .

### 3 讨论与结论

菌株 SYC63 中共有 22 个 MYB 转录因子基因, 与已知真菌中 MYB 转录因子数目相似; 对其理化性质、结构域预测及结构预测后发现, 枝孢菌 MYB 转录因子之间的结构差异较大, 而植物中转录因子间差异较稳定。按结构域重复数目分类, 动植物中共有 4 类 MYB 转录因子<sup>[4]</sup>, 而在枝孢菌中 MYB 基因只有 1R-MYBs 和 2R-MYBs, 相关研究显示 1R-MYB 可能具有与 2R-MYB 或 3R-MYB 不同的功能, 它可能不与 DNA 分子直接接触, 而是通过调节组蛋白直接或间接调控表达<sup>[40]</sup>, 在真菌中 MYB 转录因子较动植物中相比作用方式及调控机制简单, 因此种类及功能域种类均无动植物 MYB 转录因子丰富, 并且在 SMART、CDD 和 Pfam 这 3 个在线网站内预测得到的 MYB 保守结构域数目均不一致, 可能是由于不同网站的预测依据不同所导致。

植物中 MYB 转录因子过表达可以明显提高

植物抗病能力, 具有一定广谱效应, 在真菌中过表达 MYB 转录因子同样可以提高真菌侵染能力或者产毒能力<sup>[19]</sup>。菌株 SYC63 中含有 TATA-box 的 MYB 转录因子基因很多, 而 TATA-box 富集的基因更容易受外界诱导<sup>[41]</sup>, 并且 as-1 等 6 个顺式作用元件的高度富集说明 MYB 基因的表达易受外界环境诱导。启动子 G-box 是 bZIP 转录因子结合位点, 同时含有 bHLH 蛋白结合位点, 此外还可以与 H-box 共同发挥作用, 提高植物抗真菌能力。菌株 SYC63 经病原菌诱导后, MYB 转录因子基因的表达存在差异, 推测其可能与真菌抗菌能力有关。

在系统进化关系中, 我们发现菌株 SYC63 中有大量 MYB 转录因子与木霉菌亲缘关系较近, 其中 *SycMYB4*、*SycMYB5*、*SycMYB10* 和 *SycMYB12* 与真菌产毒、毒素胁迫和次级代谢产物合成相关的基因相似性较高。木霉 (*T. asperellum*) ACCC 30536 在病原菌孢子壁诱导下, MYB 转录因子上调表达调控重寄生相关基

因 *Asp55* 的表达<sup>[42]</sup>, *T. asperellum* 中仅有 3 个 MYB 转录因子经诱导下调表达, 因此初步推测本研究中锈孢子诱导下表达量上调的 *SycMYB1*、*SycMYB2*、*SycMYB6*、*SycMYB12*、*SycMYB20*、*SycMYB22* 可能也参与重寄生的过程; 与 *T. asperellum* 不同的是 SYC63 中下调表达的 MYB 转录因子基因数目更多, 因此推测重寄生枝孢菌与木霉菌的重寄生作用方式可能存在差异。

在真菌侵染过程中, 差异表达的 MYB 转录因子基因同样有可能参与侵染过程, 禾谷镰刀菌中 *MYT1* 过表达会减少真菌毒素产生, 并且 *MYT2* 和 *MYT3* 的缺失同样导致其致病性降低<sup>[18-19,43]</sup>。安一博<sup>[44]</sup>和韩静<sup>[45]</sup>分别对棘孢木霉中 *TasMyb36* 和 *TasMyb27* 基因进行了克隆表达, 发现 *TasMyb36* 可能在胁迫过程中起抗逆调节作用, *TasMyb27* 可能参与棘孢木霉抗毒素胁迫应答反应调控, 因此初步推测, 菌株 SYC63 中 *SycMYB5* 和 *SycMYB12* 可能参与枝孢菌毒素产生过程, *SycMYB9* 和 *SycMYB10* 也有可能参与抗病原菌胁迫或次级代谢产物合成途径。本课题组前期研究菌株 SYC63 在锈孢子壁诱导条件下, 部分细胞壁降解酶相关基因在 0-72 h 内的差异表达, 基因变化趋势为 0-48 h 内上调表达, 48-72 h 下调表达, 与 *SycMYB6*、*SycMYB12*、*SycMYB20* 表达变化趋势一致。GO 注释结果中, *SycMYB6* 基因可能具有酪氨酰-DNA 磷酸二酯酶活性, 能够降低对喜树碱的敏感程度<sup>[46]</sup>, 因此推测, *SycMYB6* 基因可能在重寄生过程中降低锈孢子毒素对自身的影响, 在诱导前期出现表达量上调的现象; *SycMYB12* 基因经注释发现, 其有抑制丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAP kinase)的功能, 可能参与调控 MAPK 途径中重寄生菌细胞壁合成、真菌毒素和色素合成等过程<sup>[47]</sup>, 并且在锈孢子诱导下 *SycMYB12* 基因先显著上调表达后下调表达, 说

明对 MAPK 可能是先抑制后促进的过程, 但是有关其上游和下游基因暂未可知, 只能初步推测 SYC63 重寄生作用方式可能以毒素为主, 而胞壁降解酶参与作用。

MYB 转录因子的作用方式复杂, 可以通过结合上游基因的启动子区参与调控其介导的抗病通路。拟南芥 MKP1 突变体通过 MAPK 途径介导 MYB4 的磷酸化, 从而抑制了木质素的生物合成, 破坏了植物防御网络造成植物易感病<sup>[48]</sup>, 水稻中 MYB 转录因子基因可以结合并激活 *Os4CL3* 和 *Os4CL5* 积累木质素增厚表皮, 早期抑制了病原菌进一步侵染<sup>[49]</sup>; 芥菜(*Brassica juncea*)中的 *BjMYB1* 通过识别几丁质酶基因上游的 W-box 激活 *BjCHI1* 基因表达<sup>[50]</sup>。有研究显示, 在植物中 MYB 能够激活花青素的合成<sup>[51-52]</sup>, 而枝孢菌中黑色素可能具有防紫外、抗酶裂解和真菌侵染的作用<sup>[53]</sup>, 并且 SYC63 菌株中黑色素合成基因簇受锈孢子诱导<sup>[23]</sup>, 因此推测, MYB 转录因子可能通过参与 SYC63 的黑色素合成过程发挥作用, 并且黑色素在盾壳霉中也被发现参与重寄生过程<sup>[54]</sup>。

本研究首次利用生物信息学手段对枝孢菌 SYC63 中 MYB 转录因子进行鉴定和特征分析, 结合锈孢子诱导下转录组数据合理预测菌株 SYC63 中 MYB 转录因子的功能, 在锈孢子诱导的情况下, 初步推测 MYB 转录因子可能在重寄生过程中发挥抗真菌侵染、抗逆调节、调节次级代谢产物产生及调控胞壁降解酶基因表达的作用, 并筛选得到差异表达基因, 为后续探究枝孢菌重寄生机制提供基础, 并为系统研究其他真菌中的 MYB 转录因子提供理论依据。

## REFERENCES

- [1] YANG K, LIANG J, LI QF, KONG XY, CHEN R, JIN YM. *Cladosporium cladosporioides* XJ-AC03, an aconitine-producing endophytic fungus isolated from

- Aconitum leucostomum*[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2013, 29(5): 933-938.
- [2] de WIT PD, van der BURGT A, ÖKMEN B, STERGIOPOULOS I, ABD-ELSALAM K, AERTS A, BAHKALI A, BEENEN H, CHETTRI P, COX M, DATEMA E, de VRIES RP, DHILLON B, GANLEY AR, GRIFFITHS SA, GUO Y, HAMELIN RC, HENRISSAT B, KABIR MS, JASHNI MK, et al. Correction: the genomes of the fungal plant pathogens *Cladosporium fulvum* and *Dothistroma septosporum* reveal adaptation to different hosts and lifestyles but also signatures of common ancestry[J]. PLoS Genetics, 2012, 8(11): e1003088.
- [3] SUSHIDA H, SUMITA T, HIGASHI Y, IIDA Y. Draft genome sequence of *Dicyma pulvinata* strain 414-3, a mycoparasite of *Cladosporium fulvum*, causal agent of tomato leaf mold[J]. Microbiology Resource Announcements, 2019, 8(35): e00655-e00619.
- [4] ALMATAR M, MAKKY EA. *Cladosporium cladosporioides* from the perspectives of medical and biotechnological approaches[J]. 3 Biotech, 2016, 6(1): 4.
- [5] SOLAIRAJ D, LEGRAND NNG, YANG QY, LIU JZ, ZHANG HY. Microclimatic parameters affect *Cladosporium* rot development and berry quality in table grapes[J]. Horticultural Plant Journal, 2022, 8(2): 171-183.
- [6] JING MM, HUANG BY, LI W, ZENG JK, SHAO YZ. Biocontrol of *Cladosporium cladosporioides* of mango fruit with *Bacillus atrophaeus* TE7 and effects on storage quality[J]. Current Microbiology, 2021, 78(2): 765-774.
- [7] MUKHTAR I, ASHRAF HJ, KHOKHAR I, HUANG QH, CHEN BZ, XIE BG. First report of *Cladosporium* blossom blight caused by *Cladosporium cladosporioides* on *Calliandra haematocephala* in China[J]. Plant Disease, 2020: , 117(1): 271-277.
- [8] ZHANG H, HE M, FAN X, DAI L, ZHANG S, HU Z, WANG N. Isolation, Identification and hyperparasitism of a novel *Cladosporium cladosporioides* isolate hyperparasitic to *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, the wheat stripe rust pathogen[J]. Biology (Basel), 2022 Jun 10; 11(6): 892.
- [9] MORICCA S, RAGAZZI A, MITCHELSON KR, ASSANTE G. Antagonism of the two-needle pine stem rust fungi *Cronartium flaccidum* and *Peridermium pini* by *Cladosporium tenuissimum* in vitro and in planta[J]. Phytopathology, 2001, 91(5): 457-468.
- [10] ASSANTE G, MAFFI D, SARACCHI M, FARINA G, MORICCA S, RAGAZZI A. Histological studies on the mycoparasitism of *Cladosporium tenuissimum* on urediniospores of *Uromyces appendiculatus*[J]. Mycological Research, 2004, 108(2): 170-182.
- [11] 苏琴, 谢玲, 陈艳露, 廖仕同, 张艳, 农倩. 香蕉枯萎病生防菌绿头枝孢菌 LS1 的筛选鉴定[J]. 微生物学通报, 2019, 46(12): 3248-3256.
- SU Q, XIE L, CHEN YL, LIAO ST, ZHANG Y, NONG Q. Screen and identification of biocontrol strain *Cladosporium chlorocephalum* LS1 against banana *Fusarium wilt*[J]. Microbiology China, 2019, 46(12): 3248-3256 (in Chinese).
- [12] CHAIBUB AA, de SOUSA TP, de ARAÚJO LG, de FILIPPI MCC. Molecular and morphological characterization of rice phylloplane fungi and determination of the antagonistic activity against rice pathogens[J]. Microbiological Research, 2020, 231: 126353.
- [13] 朱倩洁, 朱自平, 于新月, 张强, 曹宏哲, 邢继红, 张康, 董金皋. 灰葡萄孢 MYB 转录因子家族基因的鉴定及表达分析[J]. 农业生物技术学报, 2021, 29(12): 2355-2364.
- ZHU QJ, ZHU ZP, YU XY, ZHANG Q, CAO HZ, XING JH, ZHANG K, DONG JG. Identification and expression analysis of transcription factor MYB family genes in *Botrytis cinerea*[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2021, 29(12): 2355-2364 (in Chinese).
- [14] DUBOS C, STRACKE R, GROTEWOLD E, WEISSHAAR B, MARTIN C, LEPINIEC L. MYB transcription factors in *Arabidopsis*[J]. Trends in Plant Science, 2010, 15(10): 573-581.
- [15] VERMA S, GAZARA RK, VERMA PK. Transcription factor repertoire of necrotrophic fungal phytopathogen *Ascochyta rabiei*: predominance of MYB transcription factors as potential regulators of secretome[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 1037.
- [16] OGATA K, KANEI-ISHII C, SASAKI M, HATANAKA H, NAGADOI A, ENARI M, NAKAMURA H, NISHIMURA Y, ISHII S, SARAI A. The cavity in the hydrophobic core of Myb DNA-binding domain is reserved for DNA recognition and trans-activation[J]. Nature Structural Biology, 1996, 3(2): 178-187.
- [17] XIANG QJ, JUDELSON HS. Myb transcription factors in the oomycete *Phytophthora* with novel diversified DNA-binding domains and developmental stage-specific expression[J]. Gene, 2010, 453(1/2): 1-8.
- [18] LIN Y, SON H, LEE J, MIN K, CHOI G J, KIM JC, LEE YW. A putative transcription factor MYT1 is required for female fertility in the ascomycete *Gibberella zeae*[J]. PLoS One, 2011, 6(10): e25586.
- [19] LIN Y, SON H, MIN K, LEE J, CHOI G J, KIM JC, LEE

- YW. A putative transcription factor MYT2 regulates perithecial size in the ascomycete *Gibberella zeae*[J]. PLoS One, 2012, 7(5): e37859.
- [20] ARRATIA-QUIJADA J, SÁNCHEZ O, SCAZZOCCHIO C, AGUIRRE J. FlbD, a Myb transcription factor of *Aspergillus nidulans*, is uniquely involved in both asexual and sexual differentiation[J]. Eukaryotic Cell, 2012, 11(9): 1132-1142.
- [21] ZHU XX, LI X, HE Q, GUO DX, LIU CQ, CAO JY, WU ZY, KANG ZS, WANG XJ. TaMYB29: a novel R2R3-MYB transcription factor involved in wheat defense against stripe rust[J]. Frontiers in Plant Science, 2021, 12: 783388.
- [22] JI SD, WANG ZY, WANG JJ, FAN HJ, WANG YC, LIU ZH. Properties analysis of transcription factor gene *TasMYB36* from *Trichoderma asperellum* CBS433.97 and its heterogeneous transformation to improve antifungal ability of *Populus*[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 12801.
- [23] 梅超, 范世昌, 艾小满, 李靖. 一株重寄生枝孢菌的基因组测序及重寄生机制分析[J]. 微生物学通报, 2022, 49(8): 3310-3323.
- MEI C, FAN SC, AI XM, LI J. Genome sequencing and mycoparasitism mechanism of a *Cladosporium* sp. strain[J]. Microbiology China, 2022, 49(8): 3310-3323 (in Chinese).
- [24] EL-GEBALI S, MISTRY J, BATEMAN A, EDDY SR, LUCIANI A, POTTER SC, QURESHI M, RICHARDSON LJ, SALAZAR GA, SMART A, SONNHAMMER E L L, HIRSH L, PALADIN L, PIOVESAN D, TOSATTO S C E, FINN R D. The Pfam protein families database in 2019[J]. Nucleic Acids Research, 2019, 47(D1): D427-D432.
- [25] LETUNIC I, BORK P. 20 years of the SMART protein domain annotation resource[J]. Nucleic Acids Research, 2018, 46(D1): D493-D496.
- [26] LIU WZ, XIE YB, MA JY, LUO XT, NIE P, ZUO ZX, LAHRMANN U, ZHAO Q, ZHENG YY, ZHAO Y, XUE Y, REN J. IBS: an illustrator for the presentation and visualization of biological sequences[J]. Bioinformatics: Oxford, England, 2015, 31(20): 3359-3361.
- [27] WILKINS MR, GASTEIGER E, BAIROCH A, SANCHEZ JC, WILLIAMS KL, APPEL RD, HOCHSTRASSER DF. Protein identification and analysis tools in the ExpASY server[J]. Methods in Molecular Biology: Clifton, N J, 1999, 112: 531-552.
- [28] HORTON P, PARK KJ, OBAYASHI T, FUJITA N, HARADA H, ADAMS-COLLIER CJ, NAKAI KT. WoLF PSORT: protein localization predictor[J]. Nucleic Acids Research, 2007, 35 (web server issue): W585-W587.
- [29] BAILEY TL, BODEN M, BUSKE F A, FRITH M, GRANT CE, CLEMENTI L, REN JY, LI WW, NOBLE WS. MEME SUITE: tools for motif discovery and searching[J]. Nucleic Acids Research, 2009, 37 (web server issue): W202-W208.
- [30] CHEN CJ, CHEN H, ZHANG Y, THOMAS H R, FRANK M H, HE YH, XIA R. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data[J]. Molecular Plant, 2020, 13(8): 1194-1202.
- [31] GEORJON C, DELÉAGE G. SOPMA: significant improvements in protein secondary structure prediction by consensus prediction from multiple alignments[J]. Computer Applications in the Biosciences: CABIOS, 1995, 11(6): 681-684.
- [32] WATERHOUSE A, BERTONI M, BIENERT S, STUDER G, TAURIELLO G, GUMIENNY R, HEER FT, de BEER TAP, REMPFER C, BORDOLI L, Lepore R, Schwede T. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes[J]. Nucleic Acids Research, 2018, 46(W1): W296-W303.
- [33] THIJS G, MARCHAL K, LESCOT M, ROMBAUTS S, de MOOR B, ROUZÉ P, MOREAU Y. A gibbs sampling method to detect over-represented motifs in the upstream regions of co-expressed genes[A]//Proceedings of the Fifth Annual International Conference on Computational Biology[C]. April 22-25, 2001, Montreal, Quebec, Canada. New York: ACM, 2001: 305-312.
- [34] HALL B G. Building phylogenetic trees from molecular data with MEGA[J]. Molecular Biology and Evolution, 2013, 30(5): 1229-1235.
- [35] LETUNIC I, BORK P. Interactive Tree of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation[J]. Nucleic Acids Research, 2021, 49(W1): W293-W296.
- [36] 周航, 鲍泽然, 施玉玲, 李靖, 陈玉惠. 4种木霉对松疱锈病菌细胞壁的破坏作用[J]. 西南林业大学学报(自然科学), 2017, 37(4): 120-125.
- ZHOU H, BAO ZR, SHI YL, LI J, CHEN YH. The destructive effects of 4 species of *Trichoderma* on *Cronartium ribicola*[J]. Journal of Southwest Forestry University (Natural Sciences), 2017, 37(4): 120-125 (in Chinese).
- [37] 李靖, 刘风路, 陈玉惠. 茶麩生柱锈菌重寄生拟盘多毛孢产毒培养条件的筛选[J]. 江西农业大学学报, 2017, 39(2): 395-401.



- LI J, LIU FL, CHEN YH. Culture condition screening for toxin production of mycoparasites (*Pestalotiopsis* spp.) from *Cronartium ribicola*[J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2017, 39(2): 395-401 (in Chinese).
- [38] SUN BM, ZHU ZS, CAO PR, CHEN H, CHEN CM, ZHOU X, MAO YH, LEI JJ, JIANG YP, MENG W, WANG Y, LIU S. Purple foliage coloration in tea (*Camellia sinensis* L.) arises from activation of the R2R3-MYB transcription factor CsAN<sub>1</sub>[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 32534.
- [39] 张胜男, 兰建武, 李亚. 禾谷镰刀菌 MYB 转录因子生物信息学分析[J]. 分子植物育种, 2020, 18(17): 5700-5707.
- ZHANG SN, LAN JW, LI Y. Bioinformatics analysis of MYB transcription factors in *Fusarium graminearum*[J]. Molecular Plant Breeding, 2020, 18(17): 5700-5707 (in Chinese).
- [40] FELLER A, MACHEMER K, BRAUN E L, GROTEWOLD E. Evolutionary and comparative analysis of MYB and bHLH plant transcription factors[J]. The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology, 2011, 66(1): 94-116.
- [41] BAE SH, HAN H W, MOON J. Functional analysis of the molecular interactions of TATA box-containing genes and essential genes[J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0120848.
- [42] DOU K, WANG ZY, ZHANG RS, WANG N, FAN HJ, DIAO GP, LIU ZH. Cloning and characteristic analysis of a novel aspartic protease gene *Asp55* from *Trichoderma asperellum* ACCC 30536[J]. Microbiological Research, 2014, 169(12): 915-923.
- [43] KIM Y, KIM H, SON H, CHOI G J, KIM JC, LEE YW. MYT3, a Myb-like transcription factor, affects fungal development and pathogenicity of *Fusarium graminearum*[J]. PLoS One, 2014, 9(4): e94359.
- [44] 安一博. MYB36 转录因子调控木霉抗链格孢菌毒素胁迫分子机制[D]. 哈尔滨: 东北林业大学硕士学位论文, 2020.
- AN YB. Molecular mechanism of resistance regulate of *Trichoderma* MYB36 transcription factors to *Alternaria alternata* toxin[D]. Harbin: Master's Thesis of Northeast Forestry University, 2020 (in Chinese).
- [45] 韩静. TasMYB27 转录因子调控棘孢木霉抗链格孢菌分子机制[D]. 哈尔滨: 东北林业大学硕士学位论文, 2021.
- HAN J. Molecular mechanism of TasMYB27 transcription factor regulating *Trichoderma* against *Alternaria alternata*[D]. Harbin: Master's Thesis of Northeast Forestry University, 2021 (in Chinese).
- [46] NIVENS MC, FELDER T, GALLOWAY AH, PENA MMO, POULIOT JJ, SPENCER HT. Engineered resistance to camptothecin and antifolates by retroviral coexpression of tyrosyl DNA phosphodiesterase-I and thymidylate synthase[J]. Cancer Chemotherapy and Pharmacology, 2004, 53(2): 107-115.
- [47] SUN ZB, WANG Q, SUN MH, LI SD. The mitogen-activated protein kinase gene *Crmapk* is involved in *Clonostachys chloroleuca* mycoparasitism[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI, 2020, 33(7): 902-910.
- [48] LIN H, WANG MY, CHEN Y, NOMURA K, HUI SG, GUI JS, ZHANG XW, WU Y, LIU JY, LI Q, DENG Y, LI L, YUAN M, WANG S, HE SY, HE Z. An MKP-MAPK protein phosphorylation cascade controls vascular immunity in plants[J]. Science Advances, 2022, 8(10): eabg8723.
- [49] HE J, LIU YQ, YUAN DY, DUAN MJ, LIU YL, SHEN ZJ, YANG CY, QIU ZY, LIU DM, WEN PZ, HUANG J, FAN D, XIAO S, XIN Y, CHEN X, JIANG L, WANG H, YUAN L, WAN J. An R2R3 MYB transcription factor confers brown planthopper resistance by regulating the phenylalanine ammonia-lyase pathway in rice[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2020, 117(1): 271-277.
- [50] GAO Y, JIA SW, WANG CL, WANG FJ, WANG FJ, ZHAO KJ. BjMYB1, a transcription factor implicated in plant defence through activating BjCHI1 chitinase expression by binding to a W-box-like element[J]. Journal of Experimental Botany, 2016, 67(15): 4647-4658.
- [51] SPELT C, QUATTROCCHIO F, MOL JN, KOES R. Anthocyanin1 of petunia encodes a basic helix-loop-helix protein that directly activates transcription of structural anthocyanin genes[J]. The Plant Cell, 2000, 12(9): 1619-1632.
- [52] CHEN LH, HU B, QIN YH, HU GB, ZHAO JT. Advance of the negative regulation of anthocyanin biosynthesis by MYB transcription factors[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2019, 136: 178-187.
- [53] NG KP, YEW SM, CHAN CL, SOO-HOO TS, NA SL, HASSAN H, NGEOW YF, HOH CC, LEE KW, YEE WY. Sequencing of *Cladosporium sphaerospermum*, a dematiaceous fungus isolated from blood culture[J]. Eukaryotic Cell, 2012, 11(5): 705-706.
- [54] ZHAO HZ, ZHOU T, XIE JT, CHENG JS, JIANG DH, FU YP. Host transcriptional response of *Sclerotinia sclerotiorum* induced by the mycoparasite *Coniothyrium minitans*[J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 183.