

包 颖, 李泽卿, 魏琳燕, 等. 月季盐胁迫响应转录因子基因 *RcMYB102* 的克隆及表达分析[J]. 江苏农业学报, 2020, 36( 6 ): 1521-1528.  
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2020.06.023

## 月季盐胁迫响应转录因子基因 *RcMYB102* 的克隆及表达分析

包 颖<sup>1</sup>, 李泽卿<sup>2</sup>, 魏琳燕<sup>1</sup>, 陈 超<sup>1</sup>, 付 玲<sup>1</sup>, 张红心<sup>1</sup>

(1. 唐山师范学院, 河北 唐山 063000; 2. 中南林业科技大学风景园林学院, 湖南 长沙 410000)

**摘要:** 为研究月季 MYB 类转录因子基因 *RcMYB102* 的生物学功能, 以月季品种月月粉为材料, 利用生物信息学分析和实时荧光定量 PCR 技术研究 *RcMYB102* 基因在盐处理、激素处理、盐加激素共处理下不同组织不同处理时间的表达特性。克隆得到一个 MYB 类转录因子基因, 命名为 *RcMYB102*, 该基因全长为 1 492 bp, 开放阅读框(ORF) 为 1 086 bp, 编码 362 个氨基酸。序列比对发现, *RcMYB102* 在 N 端具有保守的 R2R3-MYB 结构域。系统进化树分析结果表明 *RcMYB102* 与梅花 *PmMYB6*、桃 *PpMYB6*、甜樱桃 *PaMYB102*、苹果 *MdMYB74*、枇杷 *EjMYB4* 处于同一分支, 属于 R2R3-MYB 类转录因子。实时荧光定量 PCR 结果表明: 在盐胁迫下, 外施水杨酸(SA) 和茉莉酸甲酯(MeJA) 可诱导 *RcMYB102* 的表达, 且均高于单盐胁迫处理和激素处理。上述结果表明, *RcMYB102* 可能与 SA 和 MeJA 信号转导途径相关, 推测其在月季响应盐胁迫过程中起到一定的作用。

**关键词:** 月季; 盐胁迫; *RcMYB102*; 实时荧光定量 PCR; 基因表达

**中图分类号:** S685.12      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1000-4440(2020)06-1521-08

## Cloning and expression analysis of the transcription factor gene *RcMYB102* in response to salt stress in *Rosa chinensis*

BAO Ying<sup>1</sup>, LI Ze-qing<sup>2</sup>, WEI Lin-yan<sup>1</sup>, CHEN Chao<sup>1</sup>, FU Ling<sup>1</sup>, ZHANG Hong-xin<sup>1</sup>

(1. Tangshan Normal University, Tangshan 063000, China; 2. College of Landscape Architecture, Central South Forestry University of Science and Technology, Changsha 410000, China)

**Abstract:** In order to predict the biological function of transcription factor gene *RcMYB102* in *Rosa chinensis*, the *Rosa chinensis* Old Blush was used as the material, the bioinformatics analysis of *RcMYB102* was conducted and its expression characteristics in diverse tissues under salt, hormone, and salt combined with hormone treatments were analyzed by real-time fluorescence quantitative PCR. A MYB transcription factor gene in *R. chinensis* was obtained and named *RcMYB102*. The results of bioinformatic analysis showed that the full length of *RcMYB102* gene was 1 492 bp, and the open reading frame(ORF) of *RcMYB102* was 1 086 bp. Moreover, *RcMYB102* gene encoded 362 amino acids. Results of sequence alignment revealed that *RcMYB102* had a conserved R2R3-MYB domain at the N-terminal. Phylogenetic tree analysis showed that *RcMYB102* was clustered with *PmMYB6*, *PpMYB6*, *PaMYB102*, *MdMYB74* and *EjMYB4*, and belonged to the R2R3-

MYB transcription factor. Real-time PCR results indicated that, under salt stress, *RcMYB102* was significantly up-regulated by salicylic acid(SA) and methyl jasmonate(MeJA), and the expression levels were higher than those under salt stress treatment and exogenous hormone treatment. These results indicate that *RcMYB102* may be related to signal transduction pathways of SA and MeJA, suggesting that *RcMYB102* may play a role in response to the

收稿日期: 2020-06-05

基金项目: 河北省高等学校科学技术研究项目(BJ2017102); 中国博士后科学基金项目(2019M652816); 唐山师范学院博士基金项目(2014A06)

作者简介: 包 颖(1983-), 女, 河北廊坊人, 博士, 讲师, 研究方向为月季遗传改良与分子生物学。(E-mail) baoying090924@126.com

salt stress in *R. chinensis*.

**Key words:** *Rosa chinensis*; salt stress; *RcMYB102*; real-time fluorescence quantitative PCR; gene expression

在众多的转录因子中,MYB类转录因子是数量最大、功能最多的转录因子家族之一。它们在植物的生长发育、次生代谢、激素信号转导和植物的非生物胁迫反应中都起着重要的作用<sup>[1-2]</sup>。在植物中,R2R3-MYB类型的MYB类转录因子数量较多<sup>[3]</sup>,且参与了植物的初生和次生代谢、植物细胞形态和模式建成以及植物生长发育等多个生命过程的调节<sup>[4-5]</sup>。

越来越多的报道证实MYB转录因子广泛参与植物逆境应答响应,包括生物逆境和非生物逆境,且与植物响应高盐胁迫密切相关<sup>[6-7]</sup>。在小麦(*Triticum aestivum*)中有14个MYB基因表达受盐胁迫诱导,2个MYB基因表达受盐胁迫抑制<sup>[8]</sup>;水稻(*Oryza sativa*)中有14个MYB基因表达受盐胁迫诱导;拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中存在197个MYB基因,其中35.02%的MYB基因在盐胁迫下上调表达,56.85%的MYB基因在盐胁迫下下调表达<sup>[9]</sup>;甜瓜(*Cucumis melo*)幼苗有6个MYB基因的表达量在盐胁迫下发生了明显的变化<sup>[10]</sup>;在花生(*Arachis hypogaea*)的根中至少有8个MYB基因在盐胁迫下诱导表达<sup>[11]</sup>。大量研究结果表明,MYB转录因子还参与对植物激素的应答反应。如在大豆(*Glycine max*)中GmMYB16的表达受到脱落酸(ABA)、赤霉素(GA<sub>3</sub>)和萘乙酸(NAA)的诱导<sup>[12]</sup>;在甜樱桃(*Prunus avium*)叶片中PacMYBA的表达受盐、茉莉酸甲酯(MeJA)和水杨酸(SA)的诱导<sup>[13]</sup>。大量研究结果表明水杨酸和茉莉酸作为重要的化学信号,均能激活很多防卫反应<sup>[14]</sup>。内源与外源的水杨酸、茉莉酸均有诱导植物的获得性抗性的作用,提高植物对生物和非生物逆境胁迫的抗性,如诱导月季抗黑斑病,缓解重金属对植物的毒害作用,提高植物抗盐胁迫能力等作用<sup>[15-16]</sup>。

月季(*Rosa hybrida*)是蔷薇科蔷薇属多年生常绿木本植物。月季被誉为“花中皇后”,是中国十大传统名花之一,是世界第一大切花和重要园林花卉<sup>[17]</sup>。切花生产中设施内土壤盐渍化问题限制了月季切花的品质和产量。此外,盐碱地区的环境胁迫严重制约了月季在当地园林绿化中的应用,高盐胁迫导致大多数月季品种生长不良、病虫害加重,严

重影响月季的生长发育和观赏效果。目前对于月季耐盐性的研究远滞后于花色、花型、花香等其他农艺性状。国内外对月季抗盐性的研究主要集中在形态和生理水平上,而在分子水平上对于月季耐盐性的研究较少<sup>[18-20]</sup>。关于月季盐胁迫分子机理的解析和发掘抗盐的月季品系已成为当下首要解决的问题。大量研究结果表明在盐碱土中,植物在承受盐胁迫的同时还要抵御高pH胁迫伤害。NaHCO<sub>3</sub>或Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>等碱性盐胁迫对植物所造成的破坏作用明显大于由NaCl或Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>等中性盐所造成的胁迫伤害<sup>[21]</sup>。同时关于植物抗盐特性的研究多集中在草本植物,且多以NaCl为胁迫因子,关于NaHCO<sub>3</sub>胁迫下木本植物抗盐特性的研究相对较少<sup>[22]</sup>。

前期我们利用月季品种月月粉在高盐胁迫下的转录组测序数据,筛选获得1个表达水平具有显著性差异的MYB类基因RcMYB102。为验证月季品种月月粉转录因子基因RcMYB102是否参与高盐胁迫逆境应答,本研究分析RcMYB102基因对盐胁迫以及抗性相关的激素分子(MeJA和SA)的诱导表达模式,同时进一步对月季RcMYB102进行生物信息学分析,对其基本生物学功能进行预测,为深入剖析月季的抗盐机制和培育新的抗盐碱品种提供重要基因源和理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

中国二倍体古老月季品种月月粉(*Rosa chinensis* Old Blush),购自昆明杨月季园艺有限责任公司,并将其栽植于唐山师范学院温室内培养。选用生长状况良好、植株健壮、无病虫害、株高25 cm左右的当年生月季扦插生根的幼苗进行试验。

### 1.2 材料处理

先在每个栽培槽中用10 L的1/2 Hoagland营养液缓苗1周。之后用全Hoagland营养液进行盐胁迫(200 mmol/L NaHCO<sub>3</sub>)、激素处理(1 μmol/L MeJA、200 μmol/L SA)和盐加激素共同处理(200 mmol/L NaHCO<sub>3</sub>+1 μmol/L MeJA、200 μmol/L NaHCO<sub>3</sub>+200 μmol/L SA),每个处理分别在0 h、2 h、6 h、12 h、24 h、48 h对月季根系和叶片进行取样,

-80 ℃冰箱中保存备用。每个处理 5 株,3 次重复。盐处理浓度参照丁晗<sup>[23]</sup>的研究结果,MeJA 处理浓度参照严加坤等<sup>[24]</sup>的研究结果,SA 处理浓度参照付乃鑫等<sup>[25]</sup>的研究结果。

### 1.3 总 RNA 提取与 cDNA 合成

RNA 的提取采用 RNAprep Pure 多糖多酚植物总 RNA 提取试剂盒,反转录获得 cDNA 的步骤参照 Roche 公司反转录试剂盒。上述操作过程均按照试剂盒说明书进行。

### 1.4 *RcMYB102* 基因的克隆

以月季品种月月粉生根的组培苗为材料,进行 *RcMYB102* 基因的克隆。根据前期盐胁迫转录组测序数据(SRA accession:PRJNA587482;ID:SUB6482523)和月季全基因组数据<sup>[26]</sup>,检索序列号 RC5G0056400,以月季品种月月粉 cDNA 序列为模板设计 CDS 全长扩增特异引物(表 1),并进行 PCR 扩增。PCR 反应体系为 10×KOD Buffer 5.0 μl, MgSO<sub>4</sub> 3.0 μl, dNTPs 5.0 μl, cDNA 1.0 μl, 上、下游引物各 1.5 μl, KOD Plus 高保真酶 1.0 μl, 用无菌 ddH<sub>2</sub>O 补齐至 20 μl。混匀离心后放于 PCR 仪中进行扩增。PCR 反应程序:94.0 ℃ 2 min;94.0 ℃ 15 s, 56.1 ℃ 30 s, 68.0 ℃ 1 min, 以上程序 35 个循环;68.0 ℃ 5 min, 4 ℃ 反应终止。将 PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳检测,利用 TaKaRa Mini BESTAgarose Gel DNA Extraction Kit 试剂盒(大连 TaKaRa 公司产品)回收目的条带,并与

pMD18-T 载体连接。连接产物转化大肠杆菌,蓝白斑筛选,挑取白色单菌落鉴定,根据菌落 PCR 结果,将鉴定出的阳性克隆交由诺赛生物工程有限公司测序。

### 1.5 月季转录因子基因 *RcMYB102* 的生物信息学分析

根据前期盐胁迫转录组测序数据(SRA accession: PRJNA587482; ID: SUB6482523)和月季全基因组数据<sup>[26]</sup>,获取 *RcMYB102* 基因 CDS 和基因全长序列。根据所获得的 *RcMYB102* 基因 cDNA 和基因全长序列,使用 DNAMAN 软件分析 *RcMYB102* 氨基酸序列同源性,使用 clutaLX 进行氨基酸序列比对分析,使用 MEGA 6.0 软件进行系统进化树分析。

### 1.6 实时荧光定量 PCR 分析

采用软件 Primer5.0 设计 *RcMYB102* 的实时荧光定量引物,内参基因为 *RcActin*,引物序列见表 1。*RcMYB102* 基因的表达量在 ABI7500 荧光定量 PCR 仪上进行检测。20 μl 反应体系:3 μl cDNA 模板,1 μl 上游引物,1 μl 下游引物,10 μl SYBR® Premix Ex Taq II (2×), 5 μl ddH<sub>2</sub>O。反应程序为:94 ℃ 预变性 30 s, 94 ℃ 变性 5 s, 60 ℃ 退火、延伸 2 min, 40 个循环。每处理进行 3 次生物学重复和 3 次平行样重复。相对表达量采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  [ $\Delta Ct = Ct_{RcMYB102} - Ct_{RcActin}$ ,  $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct(x\text{ h}) - \Delta Ct(0\text{ h})$ ] 计算,用 SPSS 软件进行统计分析。

表 1 试验中所用的引物

Table 1 The primers used in this study

用途	正向引物 (5'→3')	反向引物 (5'→3')
<i>RcActin</i>	TCTTTCCTCTATGCCAGTG	TCTTTCCTCTATGCCAGTG
<i>RcMYB102</i> 开放阅读框扩增	ATGGGAAGAGCACCGTCTTGTG	TTACACATGAATGAAATCATCCAAAATG
<i>RcMYB102</i> 实时荧光定量 PCR 扩增	TTTGGGCAACAAGTGCTC	AAGCCTCTTCCTAATGTGGGT

## 2 结果与分析

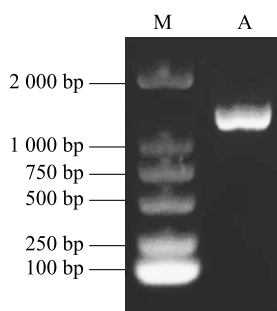
### 2.1 月季转录因子基因 *RcMYB102* 的生物信息学

根据前期盐胁迫转录组测序数据和月季全基因组数据,获得了月季 *RcMYB102* 基因的 cDNA 和基因碱基序列全长(图 1)。测序结果表明,*RcMYB102* 基因全长为 1 492 bp, 开放阅读框(ORF)为 1 086 bp, 编码 362 个氨基酸。

利用 DNAMAN 软件对 *RcMYB102* 蛋白质氨基

酸序列进行同源性比对,发现 *RcMYB102* 蛋白质氨基酸序列与苹果 MdMYB74、枇杷 EjMYB4、梅花 PmMYB6、桃 PpMYB6、甜樱桃 PaMYB102、马铃薯 StMYB34、番茄 SlMYB74、辣椒 CbMYB39、栓皮栎 QsMYB102 蛋白氨基酸序列分别有 75.48%、75.62%、71.13%、70.34%、70.60%、64.58%、62.60%、64.51%、66.58% 的相似性。利用 clutaLX 软件对转录因子 *RcMYB102* 进行氨基酸序列比对,发现 *RcMYB102* 蛋白氨基酸序列含有 2 个 MYB 家





M: DL 2000 maker; A: *RcMYB102* ORF 克隆。

图 1 *RcMYB102* 基因的 cDNA 扩增

Fig.1 PCR amplification of *RcMYB102*

族特征结构域(R2 和 R3 结构域),分别由 48 和 46 个氨基酸构成,且在结构域中存在多个保守色氨酸残基(图 2)。

为了进一步预测月季 *RcMYB102* 的基因功能,利用 MEGA 6.0 构建了月季 *RcMYB102* 蛋白与其他植物的 R2R3-MYB 类蛋白的氨基酸序列进化树。结果表明,月季 *RcMYB102* 与梅花 *PmMYB6*、桃 *PpMYB6*、甜樱桃 *PaMYB102*、苹果 *MdMYB74*、枇杷 *EjMYB4* 处于同一分支,亲缘关系较近(图 3)。

## 2.2 月季 *RcMYB102* 在不同处理下的表达模式

**2.2.1 高盐胁迫对 *RcMYB102* 基因表达的影响** 对月季品种月月粉进行高盐胁迫处理时,*RcMYB102* 基因表达明显受到诱导(图 4)。*RcMYB102* 基因在根和叶中的相对表达量均呈现先升高后降低的趋势。*RcMYB102* 基因在根中相对表达量在处理 24 h 时最高达到 23.92,*RcMYB102* 基因在叶中的相对表达量在处理 6 h 时达到最高值,为 27.67。

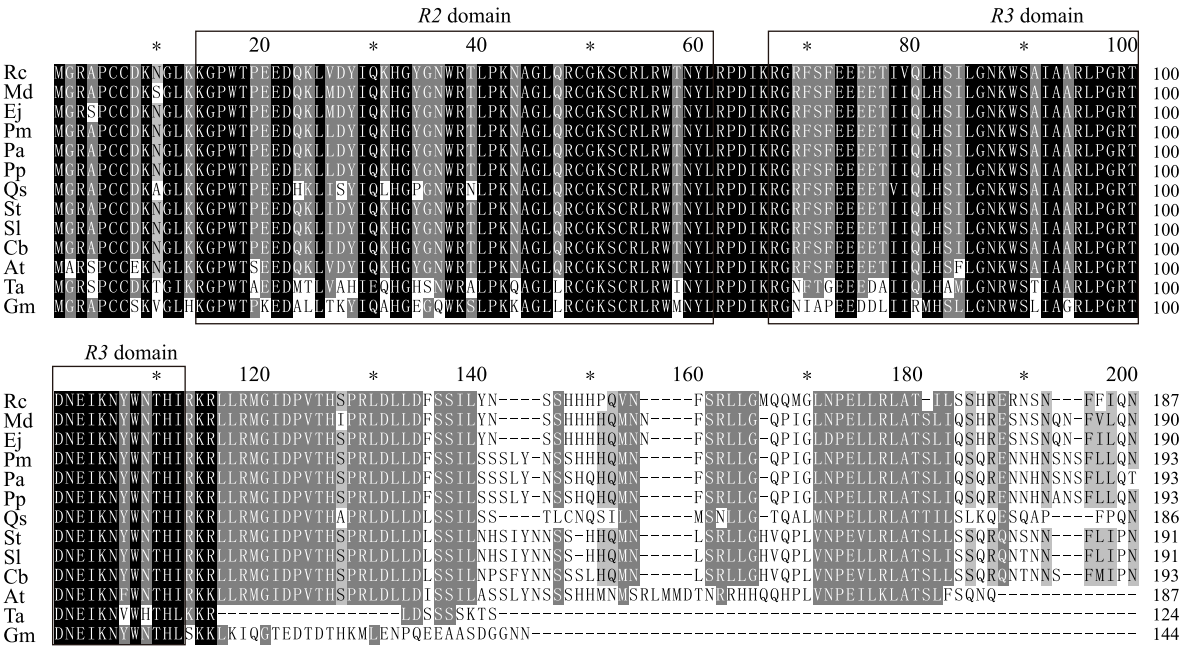
**2.2.2 外源激素对 *RcMYB102* 基因表达的影响** 如图 5 和图 6 所示,在外源激素 SA 和 MeJA 作用下,*RcMYB102* 基因在叶和根中的表达模式存在明显的差异,并且叶中的相对表达量明显高于根中。在 SA 处理下,月季 *RcMYB102* 在根中的相对表达量呈现下降的趋势,在 SA 处理 2 h 时 *RcMYB102* 的相对表达量最高,其值达到 3.08;在叶中 *RcMYB102* 的表达量呈现上升的趋势,在处理 48 h 时相对表达量最高,其值达到 25.38。在 MeJA 处理下,在根中 *RcMYB102* 的相对表达量呈现上升的趋势,在处理 48 h 时的相对表达量最高,其值达到 4.47;在叶中 *RcMYB102* 的相对表达量呈现先升高再下降的趋势,在处理 24 h 时的相对表达量最高,其值达到 33.41。

上述结果表明,*RcMYB102* 基因的表达具有组织特异性,推测 *RcMYB102* 基因主要在月季叶片中起重要作用。

**2.2.3 高盐胁迫和外源激素共处理对 *RcMYB102* 基因表达的影响** 进一步利用 Real-time PCR 对 *RcMYB102* 基因在高盐和外源激素同时处理下的表达模式进行分析。结果如图 7 和图 8 所示,在盐胁迫处理下增施 SA 处理可明显诱导 *RcMYB102* 表达。在盐胁迫下增施 SA,*RcMYB102* 在根中的相对表达量呈现平稳上升的趋势,在处理 48 h 时相对表达量最高,为 42.58;而 *RcMYB102* 在叶中的相对表达量呈现下降的趋势,在处理 2 h 时相对表达量最高,为 42.01。在盐胁迫下增施 MeJA,*RcMYB102* 在根中的相对表达量呈现上升的趋势,在处理 48 h 时相对表达量最高为 119.99;*RcMYB102* 在叶中的相对表达量呈现先升高再下降,之后又升高再下降的趋势,分别在处理 6 h 和 24 h 时出现最高峰,其值分别为 24.48 和 26.80。与单独盐胁迫处理(图 4)结果相比可知,增施 SA 和 MeJA 处理,*RcMYB102* 在根中的相对表达量均高于同一时间盐胁迫处理下的表达水平,且增施 MeJA 较增施 SA 的诱导效果更加显著。上述结果表明,*RcMYB102* 基因在月季的信号传递及耐盐防御反应中起到重要的作用,*RcMYB102* 可能主要通过 MeJA 信号转导途径参与月季对盐胁迫的应答。

## 3 讨论

MYB 类转录因子是植物最大的转录因子家族之一<sup>[27]</sup>,参与到植物多种生物胁迫和非生物胁迫过程中,从而使植物适应不同的逆境环境<sup>[28-29]</sup>。本研究中以月季品种月月粉为材料,利用高盐胁迫下月季根系转录组数据,结合实时荧光定量分析结果,筛选得到 1 个显著上调表达的 MYB 类转录因子基因 *RcMYB102*,并在月季品种月月粉中进行了克隆。同源比对结果表明月季 *RcMYB102* 氨基酸序列具有 R2 和 R3 保守结构域,属于 R2R3-MYB 类型转录因子。研究结果表明,大部分响应盐胁迫的 MYB 基因均为 R2R3 类型。如拟南芥 *AtMYB73* 基因调控着对盐胁迫的响应<sup>[30]</sup>;苹果 (*Malus domestica*) *MdMYB73* 基因负调控着苹果的抗盐性<sup>[31]</sup>;小麦 *TaMYB73* 基因受盐胁迫诱导表达<sup>[32]</sup>。本研究中,月季 *RcMYB102* 基因也受到高盐胁迫诱导表达,说明 *Rc-*



方框标记的为 R2,R3 结构域。Rc:月季 MYB102;Md:苹果 MdMYB74;Ej:枇杷 EjMYB4;Pm:梅花 PmMYB6;Pa:甜樱桃 PaMYB102;Pp:桃 PpMYB6; Qs:栓皮栎 QsMYB102;St:马铃薯 StMYB34;Sl:番茄 SlMYB74;Cb:辣椒 CbMYB39; At:拟南芥 MYB102;Ta:小麦 TaMYB33;Gm:大豆 GmMYB92。

图 2 *RcMYB102* 与其他植物 MYB 类同源蛋白质氨基酸序列多重比对  
Fig.2 Multiple alignment of amino acid sequences between *RcMYB102* with other MYB proteins

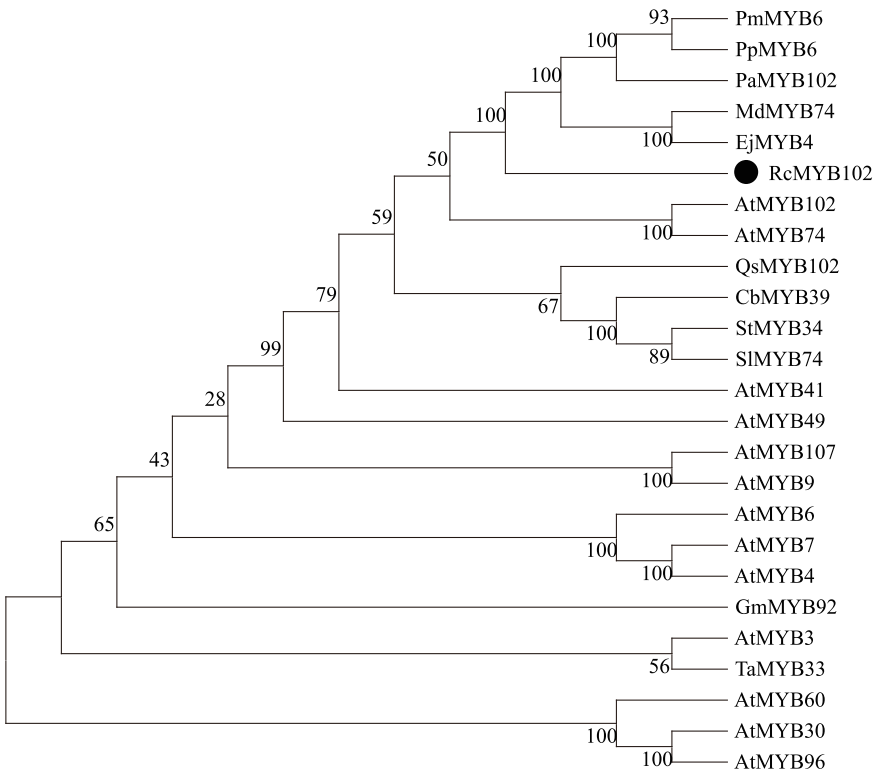
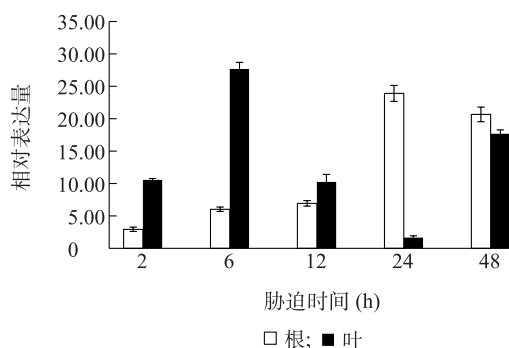
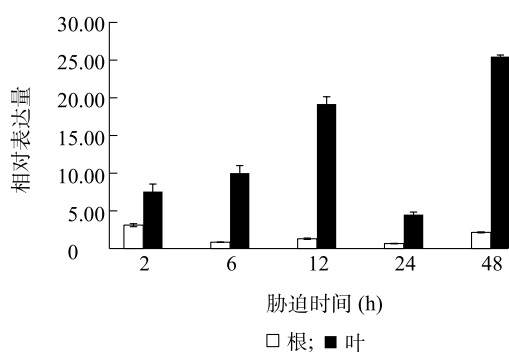
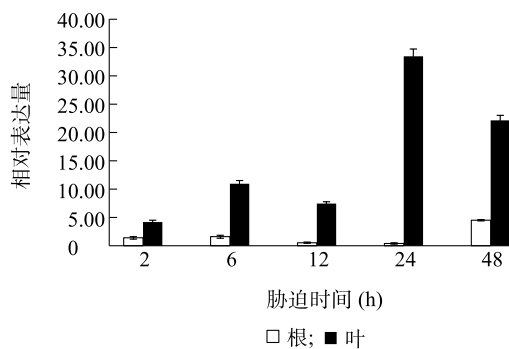
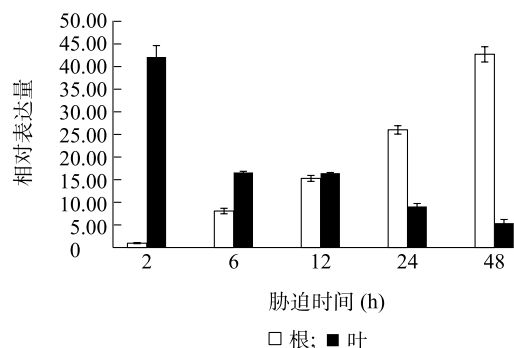
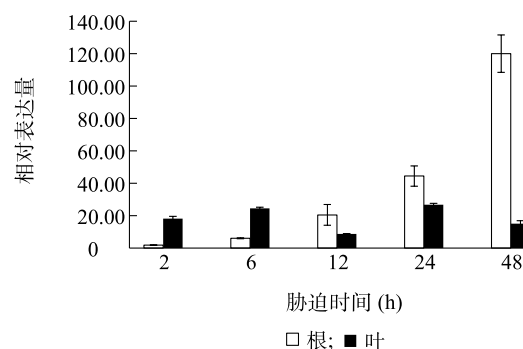


图 3 *RcMYB102* 的系统进化树  
Fig.3 Phylogenetic tree of *RcMYB102*

图4 盐胁迫下 *RcMYB102* 基因的表达特性Fig.4 Expression characteristics of *RcMYB102* gene under salt stress图5 SA 处理下 *RcMYB102* 基因的表达特性Fig.5 Expression characteristics of *RcMYB102* gene under SA treatments图6 MeJA 处理下 *RcMYB102* 基因的表达特性Fig.6 Expression characteristics of *RcMYB102* gene under MeJA treatment

*MYB102* 参与了月季高盐逆境胁迫的应答。

系统进化树结果显示, *RcMYB102* 与 *AtMYB49*、*AtMYB41*、*AtMYB74* 和 *AtMYB102* 蛋白距离极近。前人研究表明, 与月季 *RcMYB102* 处于同一分支的拟南芥 *AtMYB74* 和 *AtMYB102* 都参与了盐胁迫的响应。野生型拟南芥在 NaCl 和 ABA 处理下, *AtMYB74* 的基因转录水平有明显的升高, 证明 *At-*

图7 盐胁迫与外施 SA 处理下 *RcMYB102* 基因的表达特性Fig.7 Expression characteristics of *RcMYB102* gene under salt stress and SA treatment图8 盐胁迫与外施 MeJA 处理下 *RcMYB102* 基因的表达特性Fig.8 Expression characteristics of *RcMYB102* gene under salt stress and MeJA treatment

*MYB74* 能够响应盐胁迫<sup>[33]</sup>; 同时 *AtMYB102* 基因对盐胁迫、ABA 和 MeJA 也均有应答<sup>[34]</sup>。上述结果均表明, 转录因子 *RcMYB102* 可能与月季抗盐性有着密切的关系。

SA 和 MeJA 是植物中重要的信号分子, 在植物防御反应中起着重要的作用。前人研究表明, MYB 转录因子也参与了植物激素应答过程。如小麦的 *TaMYB4* 基因的表达受到了 SA、ABA 和 MeJA 的调控<sup>[35]</sup>; 在外源激素 SA、ABA、MeJA 和 GA<sub>3</sub> 处理下, 白木香 (*Aquilaria sinensis*) 的 *AsMYB1*、*AsMYB2* 基因被诱导表达<sup>[36]</sup>。本研究结果显示, 外源激素 SA 和 MeJA 都可以诱导月季 *RcMYB102* 基因的表达, 且叶中的表达量相对较高, 表明叶片对于外源激素 SA 和 MeJA 的响应更为敏感, *RcMYB102* 基因主要在月季叶片中发挥生物学功能。

植物激素除了参与植物的生长发育, 还会响应非生物胁迫如干旱、盐渍和低温等<sup>[37-40]</sup>。如外施适量的水杨酸和茉莉酸甲酯使龙须菜 (*Gracilariaopsis*

*lemaniformis*) 中的 *HSP70*、*MnSOD*、*CA*、*NR* 基因的表达量提高,并且施用这 2 种激素均可以提高龙须菜抵抗高温的能力<sup>[41]</sup>;在烟草(*Nicotiana tabacum*)中,外施 SA 时 MYB 类转录因子基因的表达量会显著升高,同时烟草中抗病相关蛋白质含量也会增加<sup>[42]</sup>;Hussain 等研究结果显示,外施赤霉素可以诱导拟南芥中 MYB 基因的表达,进而影响其花药育性和开花时间<sup>[43]</sup>。本研究对月季在高盐与 SA 共处理以及高盐和 MeJA 共处理下 *RcMYB102* 基因的表达模式进行了分析。结果发现在盐胁迫与外施激素共同处理下,在月季根和叶片中,*RcMYB102* 基因的表达水平比高盐和激素单独处理时都要明显升高,且在盐胁迫下增施 MeJA 较增施 SA 的诱导效果更加明显。前期研究结果也证明,盐胁迫处理 48 h,月季品种月月粉幼苗基部叶片明显褐化死亡,外施 MeJA 和 SA 均可以减缓盐胁迫对月季品种月月粉幼苗的伤害<sup>[44]</sup>。由此可以推断 MeJA 和 SA 参与了月季品种月月粉响应高盐胁迫过程。本研究对 *RcMYB102* 基因的生物信息学和表达模式分析有利于揭示月季的耐盐机制,同时为月季遗传改良奠定基础。

## 4 结 论

本研究结果表明,作为典型的 R2R3-MYB 类转录因子 *RcMYB102*,参与了月季盐胁迫响应和对激素 SA 和 MeJA 的应答过程,可能对月季体内激素信号的接受、传导和高盐胁迫应答机制具有重要的作用。该结果为深入剖析月季的抗盐机制和培育新的抗盐碱品种提供了重要基因源和理论依据。

## 参考文献:

- [1] HOBERT O. Gene regulation by transcription factors and microRNAs [J]. *Science*, 2008, 391(5871): 1758-1786.
- [2] 高建杰. 苹果两个 MYB 转录因子基因的克隆与功能分析[D]. 南京:南京农业大学,2011.
- [3] 关淑艳,焦 鹏,蒋振忠,等. MYB 转录因子在植物非生物胁迫中的研究进展[J]. *吉林农业大学学报*,2019,41(3): 253-260.
- [4] DUBOS C, STRACKE R, GROTEWOLD E, et al. MYB transcription factors in *Arabidopsis* [J]. *Trends Plant Sci*, 2010, 15: 1360-1385.
- [5] AMBAWAT S, SHARMA P, YDAV N R, et al. MYB transcription factor genes as regulators for plant responses: an overview [J]. *Physiol Mol Biol Plants*, 2013, 19: 307-321.
- [6] PIAO W L, SAKURABA Y, PAEK N. Transgenic expression of rice MYB102 (*OsMYB102*) delays leaf senescence and decreases abiotic stress tolerance in *Arabidopsis thaliana* [J]. *BMB Reports*, 2019, 52(11): 653-658.
- [7] ZHANG X, CHEN L C, SHI Q H, et al. SIMYB102, an R2R3-type MYB gene, confers salt tolerance in transgenic tomato [J]. *Plant Science*, 2020. doi: 10.1016/j.plantsci.2019.110356.
- [8] ZHANG L, ZHAO G, JIA J, et al. Molecular characterization of 60 isolated wheat MYB genes and analysis of their expression during abiotic stress [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2011, 63(1): 203-214.
- [9] KATIYAR A, SMITA S, LENKA S K, et al. Genome-wide classification and expression analysis of MYB transcription factor families in rice and *Arabidopsis* [J]. *BMC Genomics*, 2012, 13: 544.
- [10] 陈嘉贝,张芙蓉,黄丹枫,等. 盐胁迫下两个甜瓜品种转录因子的转录组分析[J]. *植物生理学报*,2014,50(2):150-158.
- [11] CHEN N, YANG Q, PAN L, et al. Identification of 30 MYB transcription factor genes and analysis of their expression during abiotic stress in peanut (*Arachis hypogaea* L.) [J]. *Gene*, 2014, 533: 332-345.
- [12] 杜 海,杨文杰,刘 蕾,等. 大豆 MYB 转录因子基因 *GmMYB-J6* 和 *GmMYB-J7* 的克隆及表达分析[J]. *作物学报*,2008,34(7): 1179-1187.
- [13] SHEN X, GUO X, ZHAO D, et al. PacMYBA, a sweet cherry R2R3-MYB transcription factor, is a positive regulator of salt stress tolerance and pathogen resistance [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2017,112: 302-311.
- [14] THOMMA B, EGGERMONT K, PENNINGCKX I A, et al. Separate jasmonate-dependent and salicylate-dependent defense-response pathways in *Arabidopsis* are essential for resistance to distinct microbial pathogens[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1998, 95(25): 15107-15111.
- [15] 金一锋. 外源性水杨酸诱导月季对黑斑病抗性的研究[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2013.
- [16] SAWADA H, SHIM I S, USUI K. Induction of benzoic acid 2-hydroxylase and salicylic acid biosynthesis-modulation by salt stress in rice seedlings [J]. *Plant Science*, 2006, 171(2): 263-270.
- [17] 陈俊愉. 中国花卉品种分类学[M]. 北京:中国林业出版社,2001.
- [18] 思 妮. 耐盐月季的选育及表达拟南芥 *AtDREB2A-CA* 对月季耐盐性的研究[D]. 天津:天津大学,2012.
- [19] TIAN X M, WANG Z Y, ZHANG Q, et al. Genome-wide transcriptome analysis of the salt stress tolerance mechanism in *Rosa chinensis* [J]. *PLoS One*, 2018, 13: e0200938.
- [20] JIANG X Q, LI S C, DING A Q, et al. The novel *Rosa* MYB transcription factor RhMYB96 enhances salt tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. *Plant Mol Biol Rep*, 2018, 36: 406-407.
- [21] SHI D C, YIN L J. Difference between salt (NaCl) and alkaline (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) stresses on *Puccinellia tenuiflora* (Griseb.) [J]. *Acta Bot Sin*, 1993, 35: 144-149.



- [22] 刘强,王占武,周晓梅. 两种枸杞对  $\text{NaHCO}_3$  胁迫的抗性生理响应[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2014, 38(6): 165-169.
- [23] 丁 晗. 野生玫瑰耐盐相关基因 *RrNHX1* 和 *RrVHA-c* 的克隆与表达分析[D]. 扬州:扬州大学, 2014.
- [24] 严加坤,严 荣,汪亚妮. 外源茉莉酸甲酯对盐胁迫下玉米根系吸水的影响[J]. 广东农业科学, 2019, 46(1): 1-6.
- [25] 付乃鑫,贺明荣,诸葛玉平,等. 外源 SA 对盐胁迫下冬小麦幼苗生长的缓解效应及其机理[J]. 中国农业大学学报, 2019, 24(3): 10-17.
- [26] RAYMOND O, GOUZY J, JUST J, et al. The *Rosa* genome provides new insights into the domestication of modern roses [J]. *Nature Genetics*, 2018, 50: 772.
- [27] NGUYEN N H, LEE H. MYB-related transcription factors function as regulators of the circadian clock and anthocyanin biosynthesis in *Arabidopsis* [J]. *Plant Signal & Behav*, 2016, 11(3): e1139278.
- [28] CHEN S C, PENG S Q, HUANG G X, et al. Association of decreased expression of a MYB transcription factor with the TPD (tapping panel dryness) syndrome in *Hevea brasiliensis* [J]. *Plant Mol Biol*, 2003, 51(1): 51-58.
- [29] LEA U S, SLIMESTAD R, SMEDVIG P, et al. Nitrogen deficiency enhances expression of specific MYB and bHLH transcription factors and accumulation of end products in the flavonoid pathway [J]. *Plant*, 2007, 225(5): 1245-1253.
- [30] 庞 茜,赵亚婷,樊锦涛,等. *AtMYB73* 基因正调控拟南芥对盐胁迫的响应[J]. 河北农业大学学报, 2017, 40(5): 44-47.
- [31] 张全燕,刘 晓,于健强,等. *MdMYB73* 的分子克隆及其在苹果愈伤组织和拟南芥幼苗中的盐抗性功能鉴定[J]. 园艺学报, 2016, 43(11): 2073-2080.
- [32] HE Y, LI W, LV J, et al. Ectopic expression of a wheat MYB transcription factor gene, TaMYB73, improves salinity stress tolerance in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 63(3): 1511-1522.
- [33] 许 瑞. RNA 介导的启动子 DNA 甲基化在调控拟南芥盐胁迫应答中的作用研究[D]. 泰安:山东农业大学, 2013.
- [34] DE VOS M, DENEKAMP M, DICKE M, et al. The *Arabidopsis thaliana* transcription factor AtMYB102 functions in defense against the insect herbivore *Pieris rapae* [J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2006, 1(6): 305-311.
- [35] NASHAAT A M, WANG X, ABOU-ATTIA M A, et al. A novel TaMYB4 transcription factor involved in the defence response against *Puccinia striiformis* f. sp. tritici and abiotic stresses [J]. *Plant Molecular Biology*, 2014, 84(5): 589-603.
- [36] 冯莹莹,董先娟,刘 晓,等. 白木香转录因子 *AsMYB1* 和 *AsMYB2* 克隆及表达分析[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(17): 3305-3311.
- [37] 赵 凤,王小乐,房伟民,等. 外源激素和温度对切花菊侧芽萌发与内源激素含量的影响[J]. 江苏农业学报, 2018, 34(1): 145-151.
- [38] 宋奇琦, SINGH P, SINGH R K, 等. 甘蔗应答黑穗病菌侵染相关酶活性和内源激素含量的变化[J]. 南方农业学报, 2018, 49(4): 650-655.
- [39] 相世刚,张瑞萍,李光宁,等. 新型生物助剂安融乐对小麦田激素型除草剂的增效作用[J]. 杂草学报, 2019, 37(4): 56-62.
- [40] 凌莉莉,李莲芳,徐婷婷,等. 激素浸种对滇青冈苗木生长和生物量积累的影响[J]. 南方农业学报, 2019, 50(1): 118-124.
- [41] 王重彬,邹同雷,孙 雪,等. 水杨酸和茉莉酸甲酯对高温龙须菜(*Gracilaria lemaneiformis*) 理化及基因表达的影响[J]. 海洋与湖沼, 2015, 46(5): 14972-14977.
- [42] KLESSIG Y D F. Isolation and characterization of a tobacco mosaic virus-inducible myb oncogene homolog from tobacco [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1996, 93(25): 14972-14977.
- [43] HHUSSAIN S S, KAYANI M A, AMJAD M. Transcription factors as tools to engineer enhanced drought stress tolerance in plants [J]. *Biotechnology Progress*, 2011, 27(2): 297-306.
- [44] 包 颖,李泽卿,魏琳燕,等. 月季 MYB 转录因子基因 *RcWER-like* 的克隆及表达分析[J]. 核农学报, 2020, 34(6): 1144-1151.

(责任编辑:张震林)