

邓文楷, 彭 艳, 杨 成, 等. 建兰 MYB 基因家族鉴定及在盐胁迫下的表达分析[J]. 江苏农业科学, 2023, 51(21): 19–28.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2023.21.004

建兰 MYB 基因家族鉴定及在盐胁迫下的表达分析

邓文楷¹, 彭 艳¹, 杨 成¹, 李婷婷², 潘贵英³

(1. 贵州民族大学生态环境工程学院, 贵州贵阳 550025; 2. 贵州民族大学研究生工作部, 贵州贵阳 550025;
3. 贵州民族大学工程实训中心, 贵州贵阳 550025)

摘要:植物 MYB 家族是最大的转录因子家族, 在植物胁迫反应中起着重要作用。基于全基因组分析, 对建兰 (*Cymbidium ensifolium*) MYB 家族成员进行鉴定和生物信息学分析, 并分析相关基因在不同盐胁迫类型下的表达情况。结果表明, 从建兰基因组中共鉴定出 136 个 CeMYB 转录因子, 包括 27 个 1R-MYB、102 个 R2R3-MYB、5 个 3R-MYB 和 2 个 4R-MYB。通过与拟南芥 MYB 进行系统发育得到 20 个基因簇, 表明这些 CeMYB 可能具有多种生物学功能。亚细胞定位、染色体定位及保守域显示, 136 个 CeMYB 分布在 18 条染色体上, 大多数 CeMYB 位于细胞核中, 且具有典型的氨基酸序列重复; 基序预测分析表明, 多个保守元件主要位于 CeMYB 的 N 端, 表明它们的功能相对保守。转录组表达分析表明, S13 亚家族的 *CeMYB61* 和 *CeMYB89* 可能是调控盐胁迫的关键基因, qRT-PCR 验证进一步表明, *CeMYB61*、*CeMYB89* 在不同组织中表现为根系 > 假鳞茎 > 叶片 > 花序, 其表达水平、模式与植株 Na⁺ 浓度分布一致, 证实 *CeMYB61*、*CeMYB89* 是建兰耐受盐胁迫的指示基因。研究为进一步探索 MYB 基因的潜在机制及盐胁迫下候选基因的挖掘提供了理论基础。

关键词:建兰; MYB 转录因子; 盐胁迫; 基因组; qRT-PCR

中图分类号:S682.310.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2023)21-0019-10

建兰 (*Cymbidium ensifolium*) 是中国栽培历史悠久的传统兰花种类之一, 因其香气馥郁、花姿优美等优点具有较高的观赏价值, 深受消费者喜爱^[1]。水分、温度等环境皆会影响建兰的生长发育及体态建成^[2], 且近期研究表明, 由于野外氮沉降或室内施肥方式导致的盐胁迫已成为影响兰花生长与栽培的重要非生物因素^[3]。在绿色植物中, 盐对植物体的影响可贯穿植物生长史的各个发育时期, 研究表明盐胁迫可对叶绿体光化学反应产生不利影响^[4], 导致气孔关闭、胞间 CO₂ 浓度增加, 此外可导

致离子稳态失衡、激素代谢紊乱及 DNA 突变等^[5]。在非生物胁迫反应中发掘候选基因和剖析信号机制, 是应对植物非生物胁迫的关键策略。

MYB 家族是数量最多的转录因子家族之一, 广泛分布于高等植物的基因组中; MYB 家族的共同特征是具有高度保守的 DNA 结合结构域, 在其 N 末端由 1~4 个不完整的重复序列构成^[6]。这些重复序列包含 3 个保守的色氨酸残基并编码 3 个 α -螺旋和 1 个与 DNA 结合的螺旋-转角折叠结构^[7]。而 C 末端区域是一个高度不一致的激活域, 从而广泛调控 MYB 的功能表达^[8]。根据 MYB 不完全串联重复序列 (R) 的数量和位置, 可将 MYB 家族成员分为 4 个亚家族, 即 1R-MYB 蛋白 (含有 1 个 R 结构域)、R2R3-MYB 蛋白 (含有 2 个 R 结构域)、R3-MYB 蛋白 (包含 3 个 R 结构域) 和 4R-MYB 蛋白 (包含 4 个 R1 和/或 R2 结构域)^[9]。一般来说, 具有 2 个重复序列的 MYB 成员是高等植物中的

收稿日期: 2023-05-13

基金项目: 贵州省特色林业产业项目 (编号: 特林研 2020-04); 贵州省大学生创新创业项目 (编号: S202010672021)。

作者简介: 邓文楷 (1996—), 男, 四川自贡人, 硕士研究生, 主要从事园艺环境工程研究。E-mail: dl18222235394@163.com。

通信作者: 彭 艳, 博士, 副教授, 主要从事生物环境地球化学研究。E-mail: yan.jane.peng@gmail.com。

[26] Wang Z X, Yang L Y, Jander G, et al. AIG2A and AIG2B limit the activation of salicylic acid-regulated defenses by tryptophan-derived secondary metabolism in *Arabidopsis* [J]. The Plant Cell, 2022, 34(11): 4641–4660.

[27] Bjornson M, Pimprikar P, Nürnberger T, et al. The transcriptional

landscape of *Arabidopsis thaliana* pattern-triggered immunity [J]. Nature Plants, 2021, 7(5): 579–586.

[28] Macho A P, Schwessinger B, Ntoukakis V, et al. A bacterial tyrosine phosphatase inhibits plant pattern recognition receptor activation [J]. Science, 2014, 343(6178): 1509–1512.

主要形式(即 R2R3 - MYB),同一植物的不同基因型间 R2R3 - MYB 成员的基因拷贝数可能存在 5 倍差异^[10]。

自植物 MYB 基因被表征以来,已经在许多植物物种中发现了 MYB 家族成员,如烟草(*Nicotiana tabacum*)^[11]、玉米(*Zea mays*)^[12]、三七(*Panax notoginseng*)^[7]和苹果(*Malus pumila*)树^[13]。且研究证实,MYB 蛋白在生理代谢、细胞分化、激素合成及信号转导等生理功能中发挥着重要作用^[14]。此外,MYB 蛋白在调节植物的非生物胁迫反应中也发挥着至关重要的作用^[15]。多项研究表明,靶向 MYB 基因的过表达可增强植物的非生物胁迫耐受性,包括拟南芥中的 *AtMYB20*^[16]、白桦树中的 *BpIMYB46*^[17]及水稻中的 *OsMYB6*^[18]。尽管已经在非生物胁迫条件下的模式和非模式植物中鉴定出许多 MYB 基因并对其进行功能分析,但关于建兰的 MYB 基因家族成员信息及其功能尚不清楚。基于此,本研究采用全基因组分析建兰的 MYB 系统发育系统、基序组成和重复序列,并采用 qRT - PCR 分析目标建兰 MYB 基因对不同盐胁迫类型的表达水平。研究结果有助于对兰花耐盐机制及 MYB 基因在兰科中的功能提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 植物材料与培养方法

试验于 2020 年 6—10 月在贵州民族大学园艺组培室中进行。建兰品种为逸红双娇,为 2 年生组培苗。供试盐胁迫分别为氯化钠(NaCl)、硫酸钠(Na₂SO₄)、碳酸氢钠(NaHCO₃)、碳酸钠(Na₂CO₃),均购自默克化学试剂有限公司。

将 2 年生的建兰植株采用 MS 培养基进行继代培养,继代培养 5 周后,按照上述盐胁迫类型进行相应处理(150 mmol/L),对照(CK)为加入无菌水,之后转移至 4 ℃环境,于盐胁迫处理后 24 h 取样,采用液氮速冻用于植株 RNA 提取。

1.2 建兰 MYB 基因家族的鉴定和系统发育分析

1.2.1 建兰 MYB 基因的鉴定 从 Pfam 下载建兰(*C. ensifolium*)的 MYB DNA - binding 结构域信息(PF002499, <http://pfam.sanger.ac.uk/>),将其结构域信息保存为隐藏马尔可夫格式(HMM),并使用 hmmer 3.0 进行检索。从拟南芥信息资源库(<https://www.Arabidopsis.org/>)下载拟南芥 MYB 蛋白序列对建兰的 MYB 基因组数据库进行 Blast 对

比,参数设置值 < 10⁻²⁰ 构建 fasta 文件(CeMYB.fasta)。随后采用 NCBI 的 conserved Domains Tool 工具对 CeMYB.fasta 进行筛选,以去除 CeMYB 结构域缺失或不正确的序列;按照 Christian 等所述的分类方法^[19]对 MYB 进行分类,以得到 CeMYB 基因家族信息。

1.2.2 建兰 MYB 基因的序列分析及系统发育分析

对获得的 CeMYB 基因家族信息库分别进行分类分析,采用 ExPASy 系统(http://web.expasy.org/compute_pi/)和 WoLF PSORT(<https://wolfpsort.hgc.jp/>)用于预测 CeMYB 蛋白的分子量、等电点及亚细胞位置等^[20]。采用 Clustal W 生成多序列比对,通过在线工具 WebLogo(<http://weblogo.berkeley.edu/logo.cgi>)确定 MYB 蛋白的 DNA - binding 结构域特征。通过 MUSCLE 软件对建兰和拟南芥的 MYB 蛋白的全长蛋白质序列进行对比,将拟南芥的 MYB 和建兰 MYB 的比对蛋白序列提交到 IQ - TREE v1.6.12 系统采用邻接法构建 MYBs 的系统进化树。

1.2.3 建兰 CeMYB 基因结构和保守 motif 分析

基于基因结构显示服务器(<http://gsds.cbi.pku.edu.cn/>)网站分析该家族成员的外显子 - 内含子结构,采用 MEME(<http://memesuite.org/tools/meme>)设定基序(motif)数为 2^[21],而其他参数保持默认,利用 PSORTTP prediction(<https://prosite.expasy.org/>)进行亚细胞定位预测,结果采用 TBtools 软件进行可视化^[22]。

1.2.4 建兰 CeMYB 基因启动子序列分析、染色体定位和同线性分析 通过 PlantCARE 预测顺式作用元件(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>)基于 CeMYB 的启动子序列(起始密码子上游 1 500 kb 序列)。通过 TBtools 根据建兰基因组的注释数据获得 CeMYBs 在建兰基因组中的染色体定位。使用 TBtools 的 One Step MCScanx 程序显示每对建兰染色体之间的同线关系^[23],并采用 TBtools 进行可视化分析。

1.3 CeMYB 基因响应不同盐胁迫类型的表达分析

1.3.1 建兰 RNA 提取 将建兰植株根系、假鳞茎、叶片及花序样品(250 mg)加入液氮快速研磨,按照 Plant RNA Kit 提取试剂盒(omega)相关说明提取建兰总 RNA,采用 Nano Drop 2000 紫外分光光度计(Nano Drop 2000,USA)检测 RNA 浓度,采用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测检验 RNA 质量。

1.3.2 建兰 RT-qPCR 分析 将质检合格的 RNA 采用反转录试剂盒 II (Evo M-MLV) 反转录合成 cDNA, 将 cDNA 采用无菌水稀释 100 倍, 作为后续 RT-qPCR 的模板。建兰相关引物采用 Primer 6.0 软件设计扩增引物(表 1), 以 GAPDH 作为内参基

因。RT-qPCR 反应体系与反应程序参照曹映辉等的方法^[24], 使用 Bio-Rad (Bio-Rad Laboratories Inc., USA) 的 C1000 Touch PCR 热循环仪和 CFX Connect 实时检测系统, 每个处理进行 3 个复孔, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算基因的相对表达量。

表 1 建兰基因的 qRT-PCR 引物序列信息

基因名	基因登录号	正向引物序列(5'→3')	反向引物序列(5'→3')
<i>GAPDH</i>	—	GCAATCACCGCCACTCAGAAGA	CACGGAACGCCATACCACTCAAT
<i>CeMYB61</i>	JL001865	TGCTGTTTCAAGGAGGGGAT	AGTTTAGCCATCGGAGACGG
<i>CeMYB89</i>	JL008773	GTTCCAACGAAAGCAGGGTT	TGCCAAGGAGCTTTGTGAAGTCT

1.4 数据处理与统计分析

采用 Excel 2007 对 *CeMYB* 的 qRT-PCR 数据进行整理, 采用 DPS 14.0 进行方差分析及 Duncan's 检验, 相关图形采用 R5、Origin 2022 绘制。

2 结果与分析

2.1 建兰 MYB 转录因子的筛选

由图 1 可知, 将建兰转录组相关蛋白序列注释至 PlantTFDB 数据库, 通过 BLAST 对比最终鉴定出 10 种共 678 个转录因子。其中, MYB 转录因子家族

的数量最多, 达 143 个, 其次为 bZIP、bHLH、C3H 型转录因子, 分别为 99、86、69 个。随后以拟南芥的 MYB 蛋白全序列为对比库, 通过 BLAST 对比初步鉴定, 然后通过 Pfam 筛选出来, 在建兰基因组中共获得 140 个 MYB 序列, 使用 hmmer 3.0 检索, 共获得 136 条完整的 MYB 序列, 其中包括 27 个 1R-MYB、102 个 R2R3-MYB、5 个 3R-MYB 和 2 个 4R-MYB, 根据其在染色体上的位置命名为 *CeMYB1* ~ *CeMYB136*。

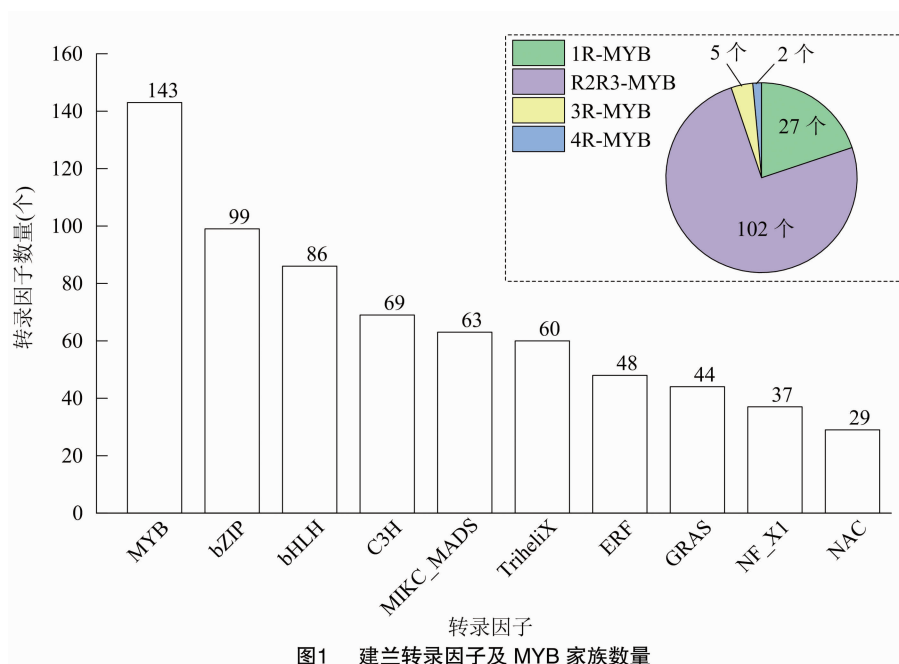


图1 建兰转录因子及 MYB 家族数量

2.2 建兰 MYB 基因家族的系统发育和分类

由图 2 可知, 对 136 个建兰 MYB 转录因子蛋白序列信息和 131 个拟南芥 (*A. thaliana*) MYB 进行多序列对比, 根据对比结果构建系统发育树。结果表明, 建兰和拟南芥的 MYB 成员可形成 25 个亚家族,

分别命名为 S1 ~ S25。这些亚家族还包含一些最初不属于 S25 亚家族的 R2R3-MYB 成员, 并且大多数亚群包含来自建兰和拟南芥的 R2R3-MYB 成员, 表明一些 R2R3-MYB 同源成员可能在漫长的进化历程中发生了丢失, 就建兰 MYB 家族成员而

言,参照拟南芥 MYB 的基本表征可将建兰 MYBs 分为 20 个亚家族,其中,S21 亚家族拥有最多的 MYB

成员(16 个),其次是 S14 亚家族(10 个),而 S7、S9、S16 和 S19 的 CeMYB 数量最少,各含 2 个。

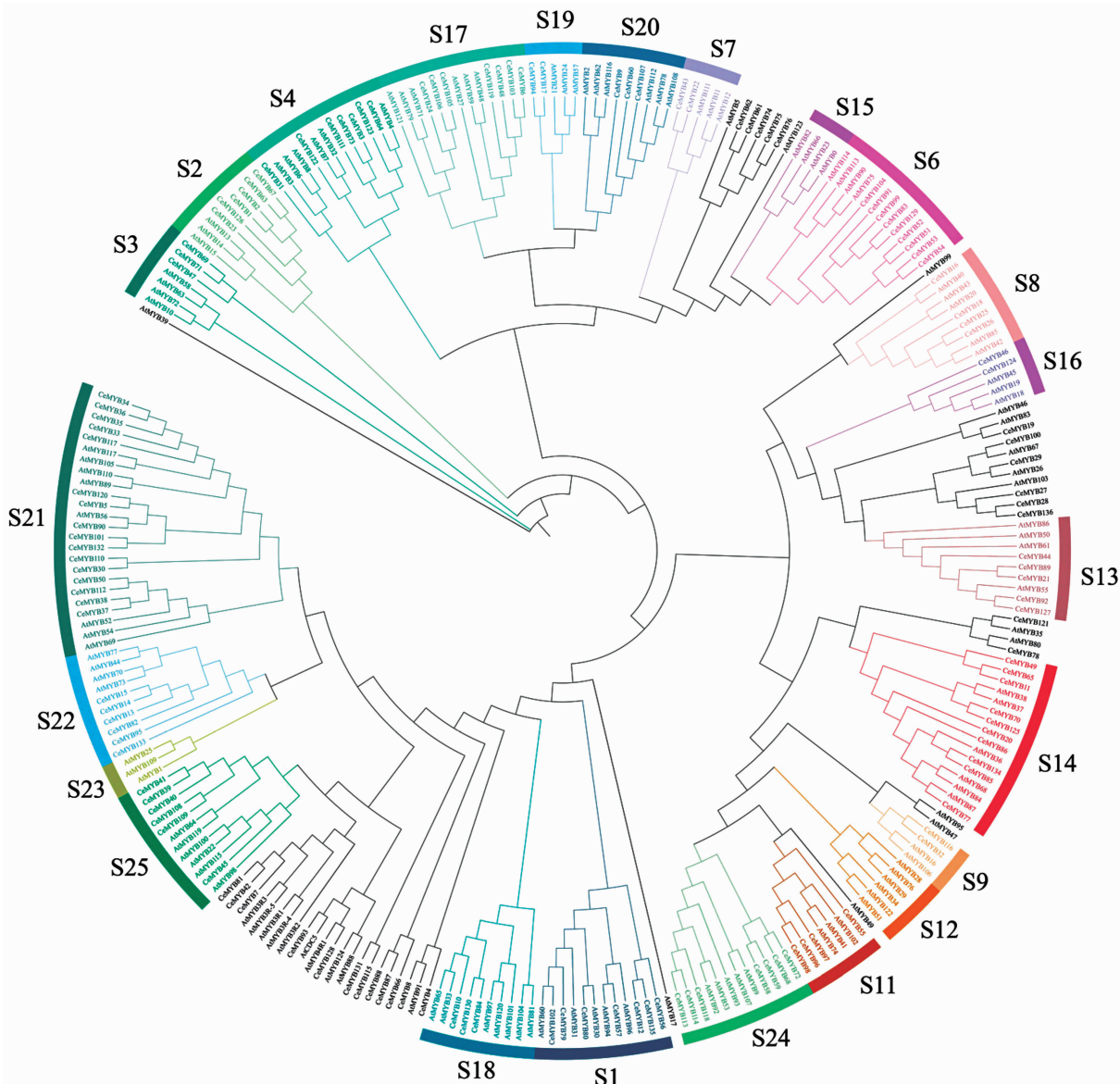


图2 建兰 MYB 基因家族的系统发育与分类

2.3 建兰 MYB 蛋白保守基序分析

2.3.1 建兰 MYB 蛋白保守基序分布分析 为研究 CeMYB 蛋白序列的功能多样化形式,通过 MEME 系统鉴定了 CeMYB 转录因子的 15 个保守基序(基序 1~15)。由图 3-A 可知,大多数基序集中、规则分布在 CeMYBs 的 N 端,少数基序不规则分布在 C 端;属于同一亚科的 CeMYB 整体具有较为相似的保守基序,而不同亚科的 CeMYB 之间基序存在较大差异。大多数 CeMYB 具有基序 1、2、3、5,几乎所有 CeMYB 都包含 2 个以上的保守基序,而 CeMYB131、CeMYB38 和 CeMYB40 仅含有 1 个基序;

CeMYB99、CeMYB83 和 CeMYB129 包含基序 1 和基序 5。除了 CeMYB86、CeMYB39 含有基序 10 和基序 12 外,仅 S1 亚家族的成员有基序 10、基序 12。此外,基序 13 仅存在于 S21 亚家族成员的 C 端,推测保守的基序可能与该亚科的特定功能有关。由图 3-C 可知, CeMYB82、CeMYB15、CeMYB13、CeMYB14、CeMYB40、CeMYB39、CeMYB8、CeMYB53、CeMYB76、CeMYB75、CeMYB62、CeMYB3、CeMYB59、CeMYB115 和 CeMYB25 无内含子,而其他 CeMYB 有 1~13 个内含子。共有 66 个 CeMYB 含有 2 个内含子和 3 个外显子,其占 CeMYB 总数的 49.3%。这

些结果表明,虽然一部分 CeMYB 的基因结构高度保守,但不同亚科的 CeMYBs 仍表现出较为复杂的

序列多样性。

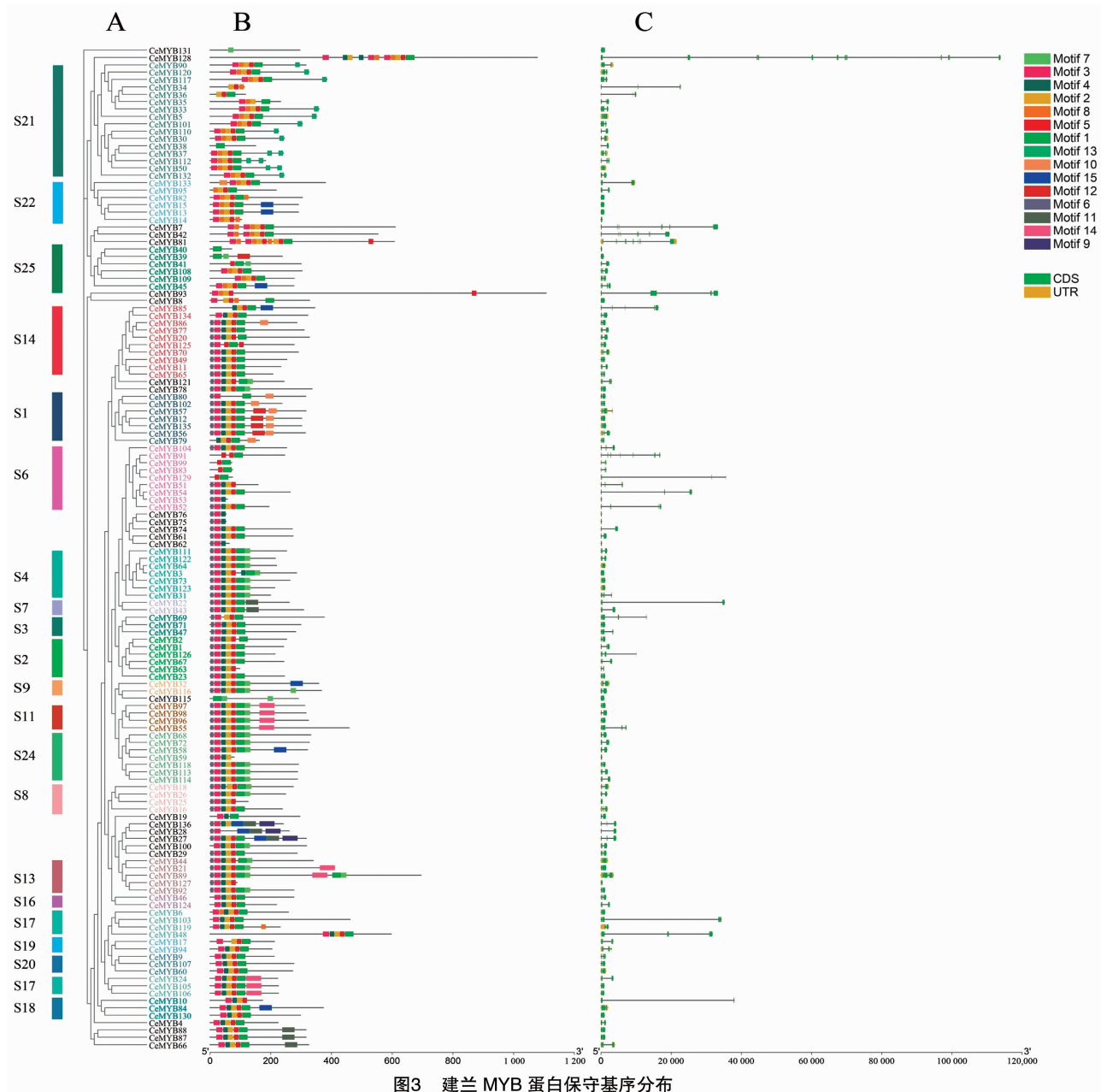


图3 建兰 MYB 蛋白保守基序分布

2.3.2 建兰 MYB 蛋白保守结构域基序分析 将 136 个 CeMYB 序列信息上传到 WebLogo 以检查该家族成员是否含有共同的保守序列。由图 4 可知, CeMYBs 的 R2 和 R3 结构域相对保守,在每 18 个氨基酸中鉴定出约 1 个色氨酸残基。R2 结构域包括 3 个色氨酸残基(W),而 R3 结构域中的第 1 个色氨酸残基被苯丙氨酸残基(F)替换;因此,仅有 1 个色氨酸残基存在于 R3 域中。

2.4 建兰 MYB 的染色体定位和共线性分析

2.4.1 建兰 MYB 转录因子的染色体定位

体作图结果(图 5)可知,在 136 个 CeMYB 中有 134 个 CeMYB 不均匀分布在建兰的 18 号染色体上,2 个 CeMYBs 定位于未具体分类的支架上。3 号染色体具有最多的 CeMYB(18 个),7 号染色体有 11 个 CeMYB,1、2、4 号染色体分别有 10 个 CeMYB,其他染色体具有 1~9 个 CeMYB。此外,蛋白质亚细胞定位结果表明,大多数 CeMYB 定位于细胞核中。

2.4.2 建兰 MYB 转录因子分布的共线性分析 由图 6 可知,串联重复和片段重复都有利于植物基因家族的扩增,共线性分析表明,建兰 MYB 基因组包

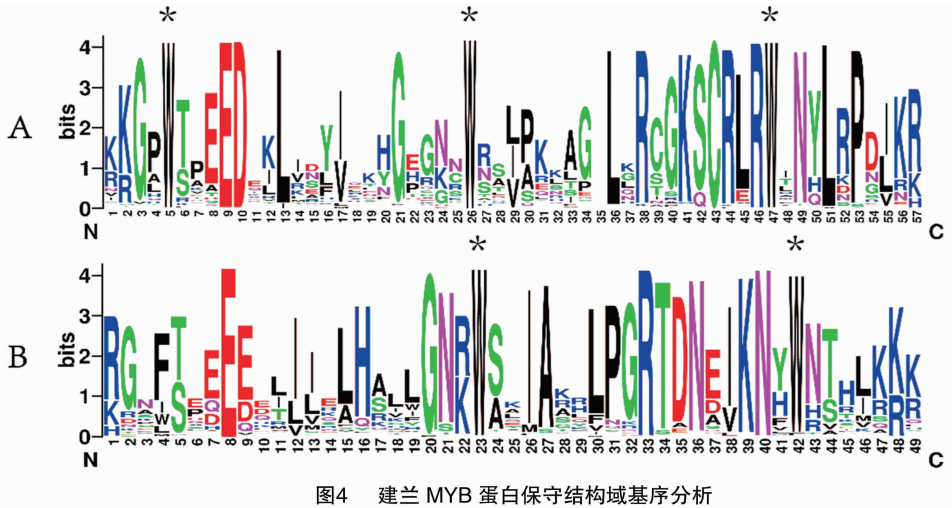


图4 建兰 MYB 蛋白保守结构域基序分析

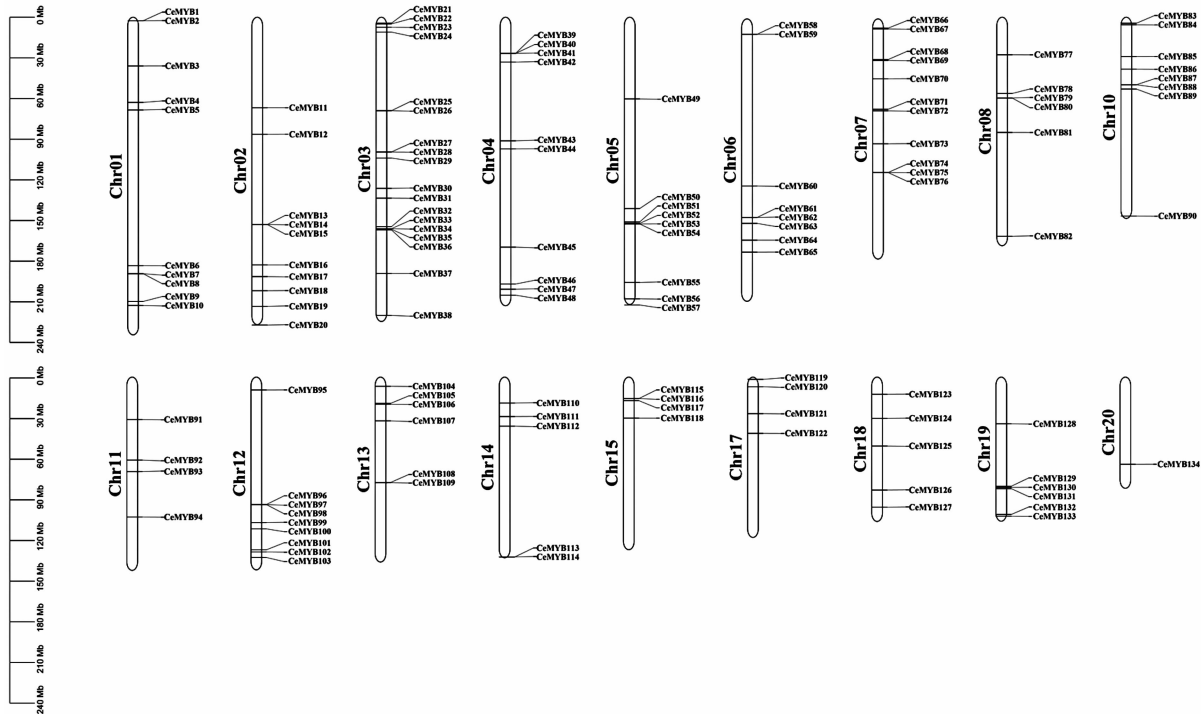


图5 建兰 MYB 转录因子的染色体定位

含 29 对片段复制的基因。在 12 号染色体上具有最多的片段重复基因,在 11、13、14、18、20 号染色体上分别仅发现了 1 个重复基因。此外,还鉴定出 23 对串联重复的基因对,其中,大部分出现在 3 号染色体上。在串联重复的基因中,*CeMYB13* 和 *CeMYB15*、*CeMYB75* 和 *CeMYB76*、*CeMYB96* 和 *CeMYB97*、*CeMYB113* 和 *CeMYB114*、*CeMYB105* 和 *CeMYB106*、*CeMYB87* 和 *CeMYB88* 均两两位于染色体的相同位置,且均具有较为相似的保守基序和基因结构。

2.5 建兰 MYB 在不同组织中的表达模式分析

由图 7 可知,从转录组数据中获得不同组织中

108 个 *CeMYB* 的表达水平(有 28 个 *CeMYB* 在建兰叶片中不表达,因此未展示)并绘制 Heatmap 图,将这些基因分为 7 组(A ~ G)。在 108 个 *CeMYB* 中, A 组有 18 个基因在花序(flower)和叶片(leaf)中低表达,在根系(root)和假鳞茎(stem)中高表达。此外,由图 8 - A 可知,A 组基因的表达模式与建兰植株 Na^+ 浓度趋于一致,表明 A 组基因可能参与了植株的盐胁迫调控。B 组共 14 个基因仅 8 个基因在根系中表达,而在其他组织中不表达或表达水平水平较低。C 组共 9 个基因在花序和根系中的表达水平较高。D 组的 22 个基因中,*CeMYB78*、*CeMYB84*、

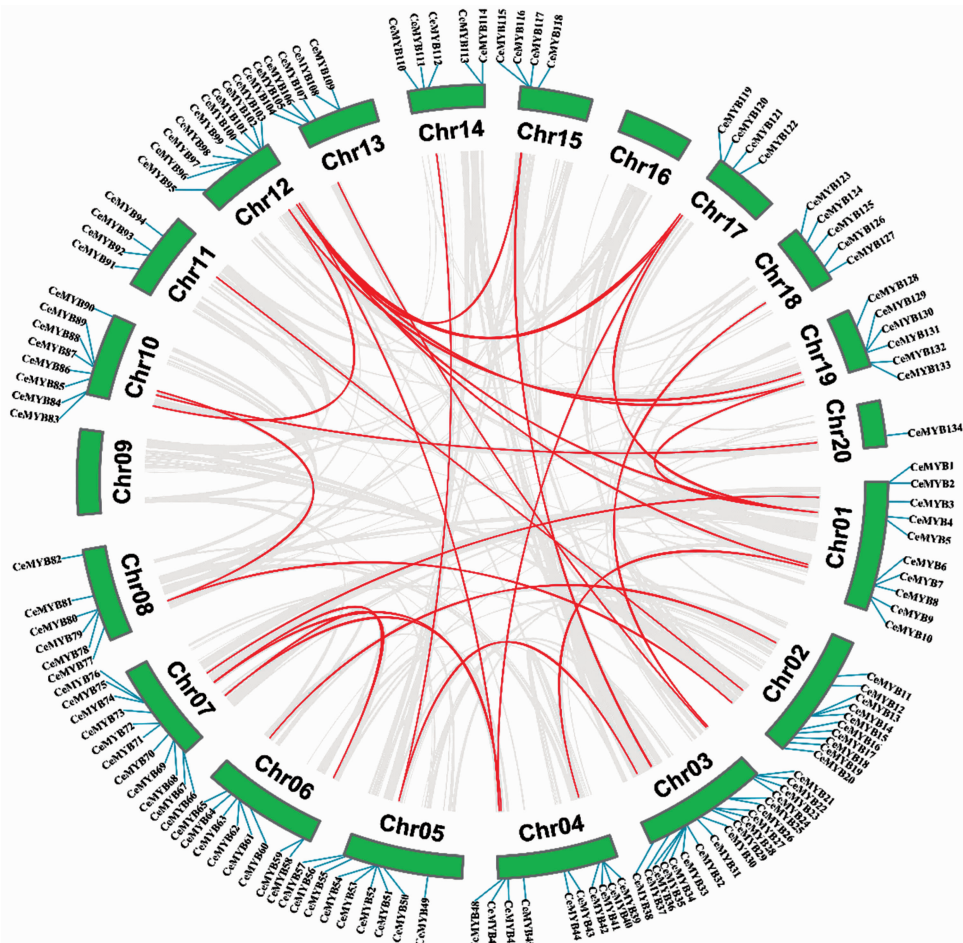


图6 建兰 MYB 转录因子分布的共线性分析

CeMYB132 在叶片和花序中高表达, *CeMYB130*、*CeMYB107*、*CeMYB70*、*CeMYB119* 基因在根系和叶片中高表达。E 组 13 个基因仅在花序中高表达。F 组中全部基因(15 个)在假鳞茎均具有较高的表达水平。G 组中,除 *CeMYB94*、*CeMYB33*、*CeMYB71* 基因外,其他基因均在叶片中高表达,部分基因(*CeMYB94*、*CeMYB33*、*CeMYB98*、*CeMYB47*)也在假鳞茎中高表达。值得注意的是,A 组 *CeMYB89* 和 *CeMYB61* 在根系、假鳞茎、叶片及花序中均具有较高的表达水平,且均属于 S13 亚家族,初步表明该两者基因参与盐胁迫的调控,应在后续研究中予以重视。

2.6 qRT-PCR 分析靶向 *CeMYB* 在不同盐胁迫类型下的验证

由图 8 可知,选择参与盐胁迫调控的 S13 亚科 *CeMYB89* 和 *CeMYB61*,研究其在不同盐胁迫中的表达水平,在 *CeMYB61*、*CeMYB89* 中,任一组织器官中 CK 表达水平皆较低,盐(NaCl 、 Na_2SO_4 、 Na_2CO_3 、 NaHCO_3)胁迫处理均显著或极显著大于 CK,且盐

胁迫处理间均表现为 $\text{NaCl} < \text{Na}_2\text{SO}_4 < \text{NaHCO}_3 < \text{Na}_2\text{CO}_3$ 。此外,qRT-PCR 结果显示 *CeMYB61*、*CeMYB89* 的表达水平整体表现为根系 > 假鳞茎 > 叶片 > 花序。该表达模式与建兰不同组织 Na^+ 浓度趋势趋于一致,表明两者基因参与建兰盐胁迫的调控。*CeMYB61* 和 *CeMYB89* 在不同组织中的表达模式与转录组测序结果基本一致,进一步证实了上述 *CeMYB* 基因表达数据的可靠性。

3 讨论与结论

全基因组分析是探索植物中 MYB 家族生物学功能的重要方法^[25-26]。本研究基于建兰基因组鉴定出 136 个 *CeMYB* 转录因子,其中 102 个 *CeMYB* 隶属于 R2R3-MYB 亚家族,占比 75%;其结果与前人研究基本一致,即在兰科植物中 R2R3-MYB 是最大的 MYB 亚家族,其占比高达 70% 以上^[27];而与小麦^[28]、烟草^[11]等其他物种存在较大差距,数量差异的原因可能是由基因组大小和基因重复元件造成的^[7],这也反映了植物 R2R3-MYB 转录因子在

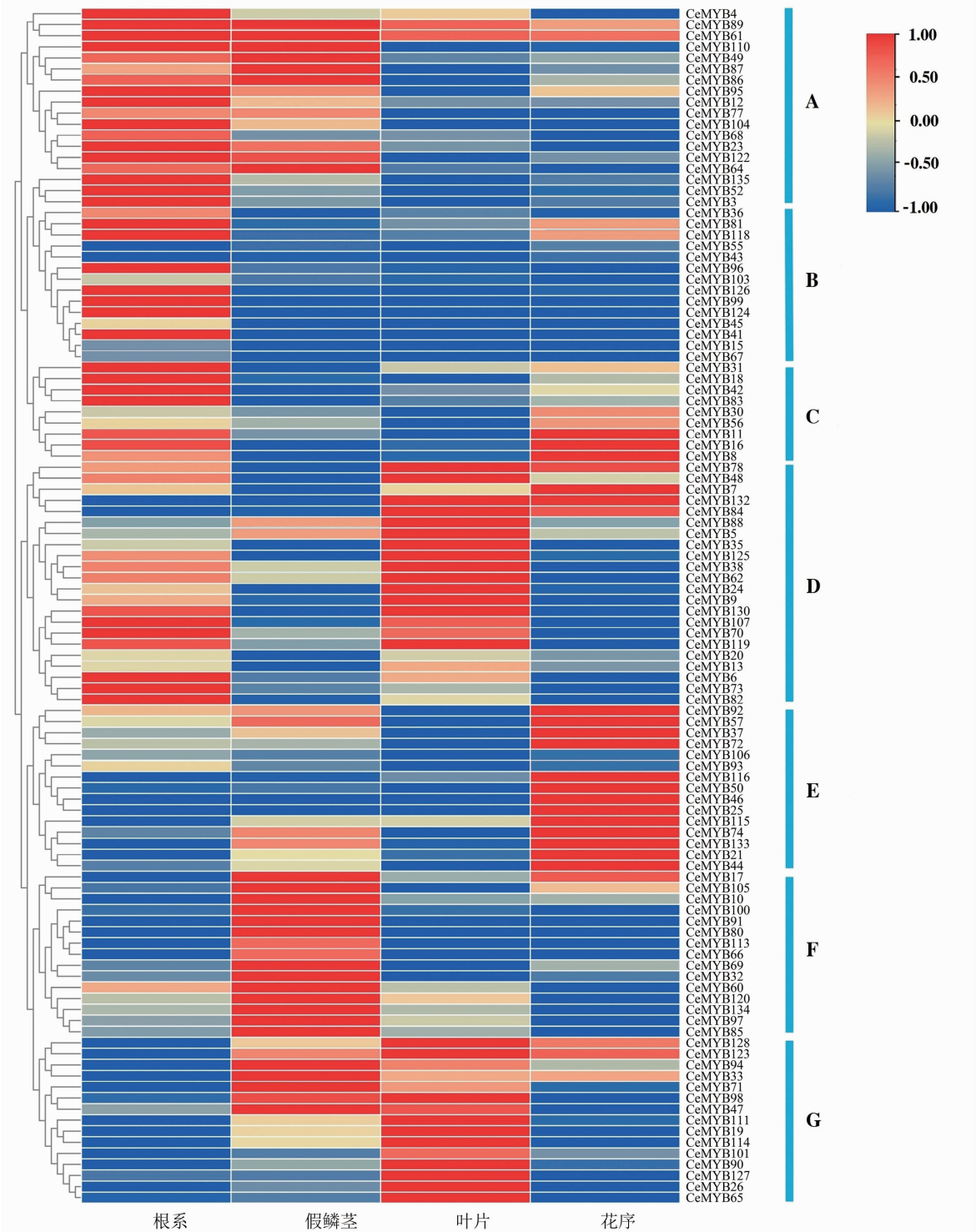


图7 建兰 MYB 在不同组织中的表达 heatmap 分析

进化过程中的复杂性和多样性。

通过结合来自拟南芥的 MYB 蛋白的系统发育分析,根据 MYB 的保守性和相同功能将相关基因被归入同一亚组, CeMYB 可划分为 20 个亚科。 CeMYB61 和 CeMYB89 归属于 S13 亚科中与 AtMYB86、AtMYB50 和 AtMYB61 聚为一类, AtMYB86、

AtMYB50 在以往的研究中已被证实参与拟南芥盐胁迫调控^[16],初步显示表明, CeMYB61、CeMYB89 可能参与建兰对盐胁迫的调控。此外,部分建兰 CeMYB 成员与拟南芥 AtMYB 的生物学特征不同,这表明这些基因可能是拟南芥分化后形成的,其可能具有独特的生物学功能,或者这些基因可能在进化过程中

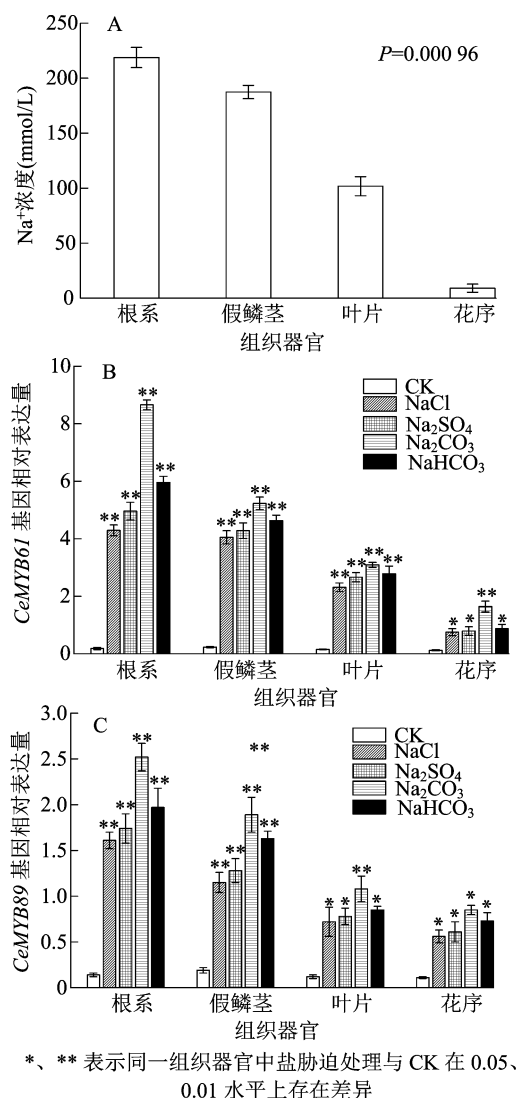


图8 qRT-PCR 分析 *CeMYB61* 和 *CeMYB89* 在不同盐胁迫类型下的验证

从拟南芥基因组中丢失^[29]。基因复制在植物进化中发挥着重要作用,是基因家族扩展的主要机制。前人研究表明,在拟南芥中发生了 3 起全基因组复制(WGD)事件^[30],而在兰科植物中则发生了 2 次^[2]。本研究中,建兰基因组中有 23 对串联重复的 *CeMYB* 和 29 对分段重复的 *CeMYB*,基因串联重复事件在染色体上均匀出现,这些结果表明基因重复是介导 MYB 基因家族进化的重要事件。

建兰 MYB 蛋白保守结构域基序分析表明, *CeMYB* 的结构域包含有代表性的色氨酸残基,其中 R2 具有 3 个高度保守的色氨酸残基,而 R3 中的第 1 个色氨酸残基被苯丙氨酸取代。这一结果与在矮牵牛 (*Petunia hybrida* Vilm) 中观察到的结果一致^[31],每个 R 基序中的色氨酸残基有助于维持螺旋-转螺旋(HTH)结构,使 MYB 转录因子能够与

DNA 结合^[32];R3 中色氨酸残基被取代可能有助于识别新的靶基因,也可能导致 DNA 与靶基因的结合活性丧失^[29]。此外,建兰 MYB 蛋白保守基序分布分析表明,系统发育树中密切相关的 *CeMYB* 具有相似的保守基序,大多数 *CeMYB* 包含基序 1、2、3、5。且大多数 *CeMYB*(49.3%) 包含 2 个内含子和 3 个外显子,仅有 S1 亚家族的成员具有基序 13,这意味着 S1 中的 *CeMYB* 可能具有不同于其他亚群的特殊功能。总体而言,同一进化分支中的基序、内含子和外显子的数量较为相似,仅少数 *CeMYB* 发现了变异。

本研究中,建兰 MYB 的转录组分析表明,不同组织中仅 S13 亚科中 *CeMYB61*、*CeMYB89* 的表达模式与建兰组织中的 Na⁺ 浓度分布趋势一致,再次表明该两者基因可能参与建兰耐受盐胁迫的调控。qRT-PCR 结果表明, *CeMYB61*、*CeMYB89* 在不同组织中表现为根系 > 假鳞茎 > 叶片 > 花序,其表达水平、模式与组织中的 Na⁺ 浓度一致,证实了 *CeMYB61*、*CeMYB89* 是建兰耐受盐胁迫的指示基因。此外,就转录丰度来看,在任一组织器官中, *CeMYB61*、*CeMYB89* 均表现为从最大至最小列为 NaCl < Na₂SO₄ < NaHCO₃ < Na₂CO₃,这意味着碱性盐胁迫对建兰的影响大于中性盐胁迫;该研究结论与 Zhang 等的结论^[33] 基本一致,因此在建兰养育过程中应注意携带相关钠离子形式的肥料施入。

综上,本研究从建兰基因组中共鉴定出 136 个 *CeMYB* 转录因子,通过与拟南芥 MYB 进行系统发育得到 20 个基因簇,根据 TBtools 进行染色体定位显示,136 个 *CeMYB* 均匀分布在 18 条染色体上。保守域分析表明,它们具有典型的氨基酸序列重复,基序预测显示,多个保守元件主要位于 *CeMYB* 的 N 端,表明它们的功能相对保守,大多数 *CeMYB* 位于细胞核中;基于 *CeMYB* 的转录组表达分析表明,S13 亚科的 *CeMYB61* 和 *CeMYB89* 可能是调控盐胁迫的关键基因,qRT-PCR 验证显示 *CeMYB61*、*CeMYB89* 表达水平、模式与各组织中的 Na⁺ 浓度分布一致,证实了 *CeMYB61*、*CeMYB89* 是建兰耐受盐胁迫的指示基因。

参考文献:

- [1] 陈明堃,陈璐,孙维红,等. 建兰种质资源遗传多样性分析及核心种质构建[J]. 园艺学报,2022,49(1):175-186.
- [2] Ai Y, Li Z, Sun W H, et al. The *Cymbidium* genome reveals the evolution of unique morphological traits[J]. Horticulture Research,

- 2021,8;255.
- [3] Li J W, Chen X D, Hu X Y, et al. Comparative physiological and proteomic analyses reveal different adaptive strategies by *Cymbidium sinense* and *C. tracyanum* to drought[J]. *Planta*, 2018, 247(1): 69–97.
- [4] Zhao S S, Zhang Q K, Liu M Y, et al. Regulation of plant responses to salt stress[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(9):4609.
- [5] Liang W J, Ma X L, Wan P, et al. Plant salt – tolerance mechanism: a review[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2018, 495(1):286–291.
- [6] 陈 娜, 迟晓元, 潘丽娟, 等. MYB 转录因子在植物盐胁迫调控中的研究进展[J]. *植物生理学报*, 2015, 51(9):1395–1399.
- [7] Chen X, Mao Y C, Chai W G, et al. Genome – wide identification and expression analysis of MYB gene family under nitrogen stress in *Panax notoginseng*[J]. *Protoplasma*, 2023, 260(1):189–205.
- [8] Xie Y F, Zhang R X, Qin L J, et al. Genome – wide identification and genetic characterization of the CaMYB family and its response to five types of heavy metal stress in hot pepper (*Capsicum annuum* cv. CM334)[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2022, 170:98–109.
- [9] Zhang C H, Ma R J, Xu J L, et al. Genome – wide identification and classification of MYB superfamily genes in peach[J]. *PLoS One*, 2018, 13(6):e0199192.
- [10] Du H, Feng B R, Yang S S, et al. The R2R3 – MYB transcription factor gene family in maize[J]. *PLoS One*, 2012, 7(6):e37463.
- [11] Yang J H, Zhang B H, Gu G, et al. Genome – wide identification and expression analysis of the R2R3 – MYB gene family in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.)[J]. *BMC Genomics*, 2022, 23(1):432.
- [12] 杨晓艺, 王 聪, 鹿锦浩, 等. 玉米 *ZmMYB2* 基因的克隆及表达分析[J]. *山东农业科学*, 2022, 54(3):1–8.
- [13] 谷 佳, 王童欣, 饶 英, 等. 基于三色堇全长转录组的 MYB 基因家族鉴定[J]. *江苏农业科学*, 2022, 50(22):11–19.
- [14] Cao Y P, Han Y H, Li D H, et al. MYB transcription factors in Chinese pear (*Pyrus bretschneideri* Rehd.): genome – wide identification, classification, and expression profiling during fruit development[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7:577.
- [15] Shukla P S, Agarwal P, Gupta K, et al. Molecular characterization of an MYB transcription factor from a succulent halophyte involved in stress tolerance[J]. *AoB Plants*, 2015, 7:plv054.
- [16] Cui M H, Yoo K S, Hyoung S, et al. An *Arabidopsis* R2R3 – MYB transcription factor, *AtMYB20*, negatively regulates type 2C serine/threonine protein phosphatases to enhance salt tolerance[J]. *FEBS Letters*, 2013, 587(12):1773–1778.
- [17] Guo H Y, Wang Y C, Wang L Q, et al. Expression of the MYB transcription factor gene *BplMYB46* affects abiotic stress tolerance and secondary cell wall deposition in *Betula platyphylla*[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2017, 15(1):107–121.
- [18] Tang Y H, Bao X X, Zhi Y L, et al. Overexpression of a MYB family gene, *OsMYB6*, increases drought and salinity stress tolerance in transgenic rice[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10:168.
- [19] Dubos C, Stracke R, Grotewold E, et al. MYB transcription factors in *Arabidopsis*[J]. *Trends in Plant Science*, 2010, 15(10):573–581.
- [20] Horton P, Park K J, Obayashi T, et al. WoLF PSORT: protein localization predictor[J]. *Nucleic Acids Research*, 2007, 35(S2):W585–W587.
- [21] 郑 燕, 赵 凯, 曹映辉, 等. 建兰 R2R3 – MYB 转录因子家族鉴定及表达分析[J]. *分子植物育种*, 2023, 21(7):2089–2099.
- [22] Hu B, Jin J P, Guo A Y, et al. GSDS 2.0: an upgraded gene feature visualization server[J]. *Bioinformatics*, 2015, 31(8):1296–1297.
- [23] Chen C J, Chen H, Zhang Y, et al. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data[J]. *Molecular Plant*, 2020, 13(8):1194–1202.
- [24] 曹映辉, 胡美娟, 童 妍, 等. 建兰 ABC 基因家族鉴定及其在花发育过程中的表达模式分析[J]. *生物技术通报*, 2022, 38(11):162–174.
- [25] 梁玉镯, 陈新娜, 陈东亮, 等. MYB 转录因子调控植物花青素生物合成研究进展[J]. *江苏农业科学*, 2022, 50(22):55–64.
- [26] 钱玉磊, 闫晋强, 刘文睿, 等. 葫芦科作物抗氧化基因的全基因组鉴定及分析[J]. *江苏农业科学*, 2023, 51(8):51–61.
- [27] Fan H H, Cui M L, Li N H, et al. Genome – wide identification and expression analyses of R2R3 – MYB transcription factor genes from two Orchid species[J]. *PeerJ*, 2020, 8:e9781.
- [28] Zhang L C, Zhao G Y, Jia J Z, et al. Molecular characterization of 60 isolated wheat MYB genes and analysis of their expression during abiotic stress[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2012, 63(1):203–214.
- [29] Li X J, Xin L E, Cheng Z Z, et al. Identification of MYB family genes and its relationship with pungency of pepper[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2020, 47(5):875.
- [30] Bowers J E, Chapman B A, Rong J K, et al. Unravelling angiosperm genome evolution by phylogenetic analysis of chromosomal duplication events[J]. *Nature*, 2003, 422(6930):433–438.
- [31] Chen G Q, He W Z, Guo X X, et al. Genome – wide identification, classification and expression analysis of the MYB transcription factor family in *Petunia*[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(9):4838.
- [32] Zhang T T, Cui Z, Li Y X, et al. Genome – wide identification and expression analysis of MYB transcription factor superfamily in *Dendrobium catenatum*[J]. *Frontiers in Genetics*, 2021, 12:714696.
- [33] Zhang H H, Xu N, Wu X Y, et al. Effects of four types of sodium salt stress on plant growth and photosynthetic apparatus in sorghum leaves[J]. *Journal of Plant Interactions*, 2018, 13(1):506–513.