

引用格式: 李佳轩, 陈岳文, 周铁, 等. 枳 *OSCA* 基因家族全基因组鉴定及干旱胁迫响应分析[J]. 浙江农林大学学报, 2025, 42(6): 1154–1164. LI Jiaxuan, CHEN Yuewen, ZHOU Tie, *et al.* Genome-wide identification and drought stress response analysis of the *OSCA* gene family in *Poncirus trifoliata*[J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2025, 42(6): 1154–1164.

枳 *OSCA* 基因家族全基因组鉴定及干旱胁迫响应分析

李佳轩¹, 陈岳文¹, 周铁², 石军³, 杨俊枫¹, 卢晓鹏¹, 李菲菲²

(1. 湖南农业大学园艺学院, 湖南长沙 410128; 2. 湖南省园艺研究所, 湖南长沙 410125; 3. 湘西土家族苗族自治州柑桔科学研究所, 湖南吉首 416000)

摘要: 【目的】揭示 *OSCA* 基因家族在枳 *Poncirus trifoliata* 中的结构特征及在干旱胁迫下的表达特征, 为 *PtOSCA* 基因功能分析与枳抗旱性研究提供理论依据。【方法】利用生物信息学方法对全基因组范围内的枳 *OSCA* 基因家族成员进行鉴定和综合分析, 通过实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 分析 *PtOSCA* 在聚乙二醇 (PEG) 处理下的动态表达特征。【结果】在枳基因组中共鉴定出 13 个 *PtOSCA*s 基因, 并根据其与拟南芥 *Arabidopsis thaliana* *OSCA* 基因家族成员的同源性命名为 *PtOSCA1*~*PtOSCA13*。染色体定位分析表明: *PtOSCA*s 不均等地分布在枳 18 条染色体中的 7 条染色体上。系统发育分析显示: *PtOSCA*s 可分为 4 组, 分别包含 5、6、1、1 个家族成员。蛋白质理化性质和保守结构域分析表明: *PtOSCA*s 之间的蛋白长度和分子质量存在差异, 但蛋白基序较为保守且均含有 Motif 1 和 Motif 3。顺式作用元件分析显示: *PtOSCA*s 基因的启动子区域存在大量响应干旱、脱落酸、厌氧诱导、低温胁迫等顺式作用元件。基因表达分析表明: *PtOSCA*s 基因表达具有组织特异性和干旱胁迫响应特征, 干旱胁迫下, *PtOSCA* 基因家族各成员在叶和根中的表达量均有不同程度变化, 叶中 11 个 *PtOSCA*s 基因和根中 10 个 *PtOSCA*s 基因受干旱胁迫诱导上调表达, 其中 *PtOSCA4* 在叶和根中的表达量分别上调了 3.76 和 36.74 倍。【结论】*PtOSCA* 基因在进化过程中表现出一定的保守性, 并与拟南芥和甜橙 *Citrus sinensis* *OSCA*s 基因呈现较近的亲缘关系。*PtOSCA* 基因家族内部存在功能差异, 其中, *PtOSCA4* 可能在干旱胁迫响应机制中发挥着关键作用。图 6 表 2 参 27

关键词: 枳; 柑橘; *OSCA* 基因; 干旱胁迫; 表达分析

中图分类号: S666 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2025)06-1154-11

Genome-wide identification and drought stress response analysis of the *OSCA* gene family in *Poncirus trifoliata*

LI Jiaxuan¹, CHEN Yuewen¹, ZHOU Tie², SHI Jun³, YANG Junfeng¹, LU Xiaopeng¹, LI Feifei²

(1. College of Horticulture, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, Hunan, China; 2. Hunan Horticultural Research Institute, Changsha 410125, Hunan, China; 3. Institute of Citrus Science, Xiangxi Tujia and Miao Autonomous Prefecture, Jishou 416000, Hunan, China)

Abstract: [Objective] This study aims to reveal the structural characteristics of the *OSCA* gene family in *Poncirus trifoliata* and its expression profile under drought stress, providing a reference for *PtOSCA* gene functional analysis and drought resistance research. [Method] Bioinformatic methods were used to identify and comprehensively analyze *PtOSCA* gene family members across the whole genome. RT-qPCR was used to analyze the dynamic expression profiles of *PtOSCA* genes under PEG treatment. [Result] Thirteen *PtOSCA*s were identified in the *P. trifoliata* genome and named *PtOSCA1*~*PtOSCA13* according to their homology with *Arabidopsis thaliana* *OSCA* genes. Chromosomal localization analysis indicated that these genes were unevenly

收稿日期: 2025-01-03; 修回日期: 2025-04-03

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2024YFD2300800); 国家自然科学基金资助项目 (32102313, 32172520)

作者简介: 李佳轩 (ORCID: 0009-0009-5412-5785), 从事果实品质形成与调控研究。E-mail: 1258329135@qq.com。

通信作者: 李菲菲 (ORCID: 0000-0002-6612-401X), 副研究员, 博士, 从事柑橘种质资源评价与遗传育种研究。E-mail: lifly@hunaas.cn

distributed across 7 out of the 18 chromosomes in *P. trifoliata*. Phylogenetic analysis showed that *PtOSCA*s were divided into four groups, with 5, 6, 1, and 1 family members respectively. Analysis of protein physicochemical properties and conserved domains revealed that there were differences in protein length and molecular weight among *PtOSCA*s, while the motifs were relatively conserved, with all *PtOSCA*s proteins containing Motif 1 and Motif 3. Cis-acting element analysis indicated that the promoter regions of *PtOSCA*s had numerous cis-elements responsive to drought, abscisic acid, anaerobic induction, and low-temperature stress. Gene expression analysis demonstrated that *PtOSCA*s had tissue-specific expression and responses to drought stress. Under drought stress, the expression levels of *PtOSCA* family members changed to varying degrees in both leaves and roots. In leaves, 11 *PtOSCA*s were induced by drought stress, and in roots, 10 *PtOSCA*s were upregulated, with *PtOSCA4* upregulated 3.76-fold in leaves and 36.74-fold in roots after drought stress induction. [Conclusion] The *PtOSCA* gene family shows evolutionary conservation and shares a close phylogenetic relationship with the *OSCA* genes of *A.thaliana* and *Citrus sinensis*. Functional differentiation exists within the *PtOSCA* gene family, and *PtOSCA4* may play a key role in drought stress response of *P. trifoliata*. The results of this study provide an important basis for research on the molecular functions of *PtOSCA*s under drought stress in *P. trifoliata*. [Ch, 6 fig. 2 tab. 27 ref.]

Key words: *Poncirus trifoliata*; *Citrus*; *OSCA*; drought stress; expression analysis

枳 *Poncirus trifoliata* 是当前柑橘 *Citrus* 种植中应用最广泛的砧木, 且已有研究表明: 枳在抗旱能力方面明显优于其他柑橘, 具有广泛的适应性和对环境压力的高度耐受性^[1-2]。高渗透压诱导的钙离子 (Ca^{2+}) 增加通道 (hyperosmolality-induced [Ca^{2+}] increase channel, *OSCA*) 是一类具有 Ca^{2+} 渗透特性的阳离子通道蛋白, 广泛存在于植物中的跨膜蛋白家族, 其主要功能是调节细胞内外的 Ca^{2+} 平衡, 从而帮助植物响应环境胁迫, 尤其在干旱胁迫下起到重要作用。目前 *OSCA* 基因家族在枳耐旱响应中的作用尚不清楚。YUAN 等^[3] 通过基于钙成像的遗传筛选策略, 在高渗透压刺激下分离出拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 突变体 *OSCA1.1*, 并发现 *OSCA1* 是一个未知的高渗透性门控钙通道, 可能在渗透压刺激中发挥作用。*OSCA1.1* 属于拟南芥 *OSCA* 基因家族的一员, 且在其他植物和真核生物中有同源基因^[3-6]。该家族的蛋白质含有钙依赖性通道结构域 (DUF221), 在真核生物中保守^[7]。在干旱条件下, *OSCA* 蛋白作为渗透传感器激活, 调节细胞内 Ca^{2+} 浓度, 启动抗旱反应, 包括调控气孔开闭和脱落酸 (ABA) 信号途径^[6-8]。已有研究表明: 多个物种的 *OSCA* 基因在干旱胁迫下表达上调, 如玉米 *Zea mays* *ZmOSCA2.4* 提高拟南芥的耐旱性^[6], 番茄 *Solanum lycopersicum* *SIOSCA6* 和 *SIOSCA8* 在聚乙二醇 (PEG) 处理下表达显著上调^[9], 水稻 *Oryza sativa* *OsOSCA3.1* 在干旱模拟条件下也表现出表达上调^[4]。

本研究分析了枳 *OSCA* 基因家族的生物信息学特征, 包含其序列特征、理化性质以及启动子区域的顺式作用元件, 同时利用转录组和实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 分析 *OSCA* 基因家族在不同组织、不同干旱胁迫程度下的表达特征, 为后期解析 *OSCA* 调控柑橘砧木枳的耐旱机制和利用该基因开展柑橘砧木抗性育种提供科学依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

以枳老籽播种生长 3 个月的实生苗为试材^[10], 育苗期为 2024 年 2 月中旬至 5 月中旬, 培养于湖南农业大学国家柑橘改良中心长沙分中心温室大棚同一栽培槽内。选取长势一致的 3 月龄枳苗置于温度为 25 ℃, 相对湿度为 75%, 光照强度为 4 000 lx, 光周期为 16 h 光照/8 h 黑暗条件的人工气候室内, 用去离子水反复漂洗根系后, 移栽固定于 2 L 水培盘漂, 采用 Hoagland 营养液预培养 1 d。在含质量分数为 20% PEG 6000 的 Hoagland 营养液中模拟干旱胁迫^[5,9], 分别于处理 0 min (T_1 , ck)、5 min (T_2)、20 min (T_3)、1 h (T_4)、6 h (T_5) 和 24 h (T_6) 后, 采集侧根及植株形态学上端第 2、3 枚完全展开叶片, 并用去离子水反复冲洗根部, 每个采样点进行 3 次生物学重复, 每次重复 5 株样本, 样品经液氮速冻后, 保存在 -80 ℃

冰箱中。

1.2 枳 *OSCA* 基因家族成员鉴定、理化性质分析及染色体定位

从拟南芥基因组数据库 TAIR-Home Page (<https://www.arabidopsis.org/>) 获取拟南芥 *OSCA* 基因家族的氨基酸序列, 作为参考序列。从华中农业大学甜橙基因组数据库 (Citrus Pan-genome to Breeding Database, CPBD, <http://citrus.hzau.edu.cn/>) 中获取甜橙 *Citrus sinensis*、枳全基因组氨基酸序列。使用 TB tools 软件 Two Sequence Files 程序对枳、甜橙、拟南芥蛋白序列进行比对, 设定比对期望值 (E) $< 10^{-5}$, 以确保比对结果的统计学显著性, 并设定同源度 $> 60\%$, 以筛选进化上较为保守的同源基因^[11-12], 最终获得甜橙和枳的 *OSCA* 家族候选基因。运用 LINUX 虚拟机系统, 采用 HMM Search 功能获得的结果, 并结合 Blast 分析, 对甜橙和枳 *OSCA* 基因家族的候选基因进行比对和筛选, 随后, 利用每千个碱基的转录每百万映射读取的片段 (PFAM) (<http://pfam.xfam.org/>) 对这些候选基因进行预测分析, 最终筛选出含完整 DUF221 结构域的基因, 并确定它为甜橙和枳 *OSCA* 的基因家族成员。为进一步分析枳 *OSCA* 蛋白的功能, 利用 WoLF PSORT (<https://wolfpsort.Hgc.jp/>) 进行枳 *OSCA* 蛋白的亚细胞定位预测。同时, 利用 ExPASy (<https://web.expasy.org/protparam/>) 对枳 *OSCA* 基因家族成员的蛋白序列进行分析以及氨基酸数量、分子量、等电点等理化性质进行分析。

1.3 基因结构及蛋白保守基序分析

从 CPBD 获取枳 *OSCA* 基因核苷酸序列及其编码序列。使用 MEME 工具 (<https://meme-suite.org/meme/>) 对枳 *OSCA* 基因编码的蛋白质进行保守基序分析, 设置基序 (Motif) 长度范围为 6~50 个氨基酸, 查找 Motif 数量设定为 20, 以研究其基序顺序和排列顺序。使用 TBtools 软件中的 Gene Structure View(Advanced) 功能对分析结果进行基因结构的可视化。

1.4 枳 *OSCA* 基因系统进化分析及启动子区顺式作用元件预测

为深入分析枳 *OSCA* 基因家族的进化关系, 选择拟南芥和甜橙 *OSCA* 基因家族作为对照, 构建系统发育树。从 TAIR-Home Page 获取拟南芥 *OSCA* 家族蛋白序列, 从 CPBD 获取枳和甜橙 *OSCA* 蛋白序列, 将枳、甜橙 *OSCA* 蛋白序列导入 MEGA 5.0, 采用 Clustal W 进行多重序列比对, 采用最大似然法 (Maximum likelihood) 构建系统进化树 (Bootstrap 值设定为 1 000)^[13], 最后, 利用 ITOL 在线网站 (<https://itol.embl.de/>) 对所得进化树进行编辑与可视化处理。

为进一步分析 *PtOSCA* 基因启动子区的顺式作用元件, 首先使用 TBtools 提取转录起始位点上游 2 000 bp 的序列, 在 PlantCARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) 网站对枳 *OSCA* 基因的启动子区域进行顺式作用元件的预测分析^[14]。

1.5 枳 *OSCA* 家族基因表达分析

从 CPBD 下载枳的 13 个 *OSCA* 基因成员在果肉、叶、胚珠、根等组织中的 FPKM 值, 并基于 $\log_2$ FPKM 值生成基因表达热图^[15]。此外, 基于前期转录组数据获得枳 *OSCA* 基因在轻度干旱、中度干旱、重度干旱胁迫下枳根组织的表达数据, 以 FPKM 值为基础, 结合 $|\log_2 FC| \geq 1.5$ 且 $P < 0.05$ 为筛选条件^[5, 16], 其中, FC 为差异倍数, 筛选出在不同干旱胁迫下显著差异表达的 *PtOSCA*s 基因。基因表达热图的绘制通过 TB tools 软件中的 HeatMap 功能完成, 以展示 *PtOSCA*s 基因在不同组织及不同干旱胁迫条件下的表达特征。基于在不同组织中的表达特异性可以为预测潜在调控的功能提供线索^[17]。

1.6 逆境胁迫下枳 *OSCA* 基因的 RT-qPCR 分析

采用植物 RNA 提取试剂盒 (SteadyPure, 艾科瑞生物) 提取枳侧根和叶总 RNA。利用反转录试剂盒 (Evo M-MLV, 艾科瑞) 进行逆转录反应。根据 *PtOSCA* 基因的 CDS 序列设计相应引物, 委托擎科生物科技有限公司合成 (表 1)。RT-qPCR 在 CFX96 real-time PCR 仪 (Bio-Rad) 中进行, 采用的试剂盒为 SsoAdvancedTM SYBR® Green Supermix。PCR 程序为: 95 °C 3 min, 95 °C 3 s, 60 °C 退火 30 s, 40 个循环; 72 °C 延伸 5 min, 4 °C 保存; 熔解曲线 65~95 °C, 每 0.05 s 温度增量 0.5 °C。

1.7 数据处理

基因相对表达量的计算采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法, 基因相对表达水平通过 Excel 2021 进行分析, 数据的显著性差异采用 SPSS 29.0 统计处理, 绘图使用 Prism 10.0。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物

Table 1 Primers for quantitative real-time PCR analysis		
基因名称	正向引物(5'→3')	反向引物(5'→3')
<i>PtOSCA1</i>	TGGAACGAGCAAGGGAACCA	TATGTTTGCTTGCAACGGAG
<i>PtOSCA2</i>	GCACACCGGTGCATTTGTAA	ACAGCAGAATCCAATCCCC
<i>PtOSCA3</i>	CAGAGGGAACAAGACCGACC	GCAGAAGCTGCAGTTACCTT
<i>PtOSCA4</i>	AGACTGAAAAGGACAGGGCG	GGGTGTCACTGTGGCATACA
<i>PtOSCA5</i>	CCAAACCCACCGAGTCAAGT	AGCAGAGCATGTGAAGGTCC
<i>PtOSCA6</i>	GGAGCTGCAATTGCTTTCCATT	TAAGGCCTTGACAACCAGC
<i>PtOSCA7</i>	CTTCCGTGGCCACATTTCCA	ACTTTCTCGGACACTGCGTT
<i>PtOSCA8</i>	TGGATCAACAAGATGAGCTGGA	CCAATCTCTGCCGTCTCTGC
<i>PtOSCA9</i>	TTTGGAACGAGGACGTCAG	AATGCCAGCCCATCCATCAA
<i>PtOSCA10</i>	TTCTCAGTTGTTCTATCATTCG	CCACCAGACCTTTGAACAAGC
<i>PtOSCA11</i>	CCGCTCAGTTCCTCCTCATC	ACTCCATGCATTCTTTTCAAT
<i>PtOSCA12</i>	ACAGTCGCATTGCGTTTCAC	CCCTGATGATCCTTATGTCCAGA
<i>PtOSCA13</i>	AAGGCTTGACTCGACTTCACC	TTGCCCCATAATGACCAGCA
<i>PtActin</i>	CCGACCGTATGAGCAAGGAAA	TTCCTGTGGACAATGGATGGA

2 结果与分析

2.1 枳 *OSCA* 基因家族染色体分布及全基因组鉴定

利用枳的全基因组序列和 *OSCA* 基因家族的保守结构 DUF221，通过生物信息学分析鉴定得到枳 *OSCA* 基因家族的 13 个基因，并根据在染色体上的定位顺序，将这些基因依次命名为 *PtOSCA1*~*PtOSCA13* (表 2)。其中，*PtOSCA12* 和 *PtOSCA13* 未被注释到具体染色体，其余基因不均等地分布在枳 18 条染色体中的 7 条染色体上：2 号染色体上 4 个，4 号染色体和 5 号染色体上各 2 个，3 号、6 号和 7 号染色体上各 1 个。通过对这些基因的长度、氨基酸序列长度、等电点和分子量分析发现：已鉴定的 *PtOSCA* 基因长度为 2 103~4 497 bp，*PtOSCA* 蛋白的分子量为 46 921.00~93 051.95 Da，平均值为 81.34 kDa。*PtOSCA* 的氨基酸数量为 409~807 个，平均值为 716 个。等电点为 6.75~9.52，平均值为 8.77。根据亚细胞定位预测结果，*PtOSCA4* 和 *PtOSCA5* 定位于细胞膜、细胞壁和叶绿体，*PtOSCA2* 和 *PtOSCA9* 定位于细胞膜和叶绿体，其余 9 个成员则定位于细胞膜。

2.2 枳 *OSCA* 基因家族系统进化树

为探讨枳 *OSCA* 基因家族的功能特性及其系统进化关系，基于 15 个 *AtOSCA*s、12 个 *CsOSCA*s 和 13 个 *PtOSCA*s 基因编码的蛋白序列，构建了系统进化树 (图 1)。*OSCA* 蛋白可分为四大类：I 类包含 17 个 *OSCA*s 成员，其中包含 5 个 *PtOSCA*s 成员(*PtOSCA1*、*PtOSCA2*、*PtOSCA4*、*PtOSCA5*、*PtOSCA9*)、8 个 *AtOSCA*s 成员 (*AtOSCA1.1*~*AtOSCA1.8*) 和 4 个 *CsOSCA*s 成员 (*CsOSCA2*、*CsOSCA4*、*CsOSCA6*、

表 2 枳 *OSCA* 基因家族信息

Table 2 Information on <i>OSCA</i> gene family in <i>P. trifoliata</i>							
基因名称	基因 ID	基因全长/bp	氨基酸数量/个	等电点	分子量/Da	染色体	亚细胞定位
<i>PtOSCA1</i>	<i>Pt2g013910.1</i>	2 280	759	9.20	86 802.76	2	细胞膜
<i>PtOSCA2</i>	<i>Pt2g013930.1</i>	2 280	759	8.96	86 861.76	2	细胞膜，叶绿体
<i>PtOSCA3</i>	<i>Pt2g023140.1</i>	2 181	726	9.17	81 688.79	2	细胞膜
<i>PtOSCA4</i>	<i>Pt2g028480.4</i>	2 319	772	9.30	88 145.30	2	细胞膜，细胞壁，叶绿体
<i>PtOSCA5</i>	<i>Pt3g032590.1</i>	3 006	758	9.08	86 482.77	3	细胞膜，细胞壁，叶绿体
<i>PtOSCA6</i>	<i>Pt4g000270.1</i>	2 127	708	8.74	80 821.35	4	细胞膜
<i>PtOSCA7</i>	<i>Pt4g001040.1</i>	2 103	700	8.85	81 011.45	4	细胞膜
<i>PtOSCA8</i>	<i>Pt5g011440.2</i>	2 229	742	8.50	83 798.96	5	细胞膜
<i>PtOSCA9</i>	<i>Pt5g018480.1</i>	2 424	807	9.52	93 051.95	5	细胞膜，叶绿体
<i>PtOSCA10</i>	<i>Pt6g003200.3</i>	4 494	682	8.86	77 495.58	6	细胞膜
<i>PtOSCA11</i>	<i>Pt7g021120.1</i>	2 424	786	6.75	89 331.88	7	细胞膜
<i>PtOSCA12</i>	<i>PtUn012370.2</i>	2 139	712	8.38	80 420.82	未知	细胞膜
<i>PtOSCA13</i>	<i>PtUn037020.1</i>	3 889	409	9.23	46 921.00	未知	细胞膜

CsOSCA9); II类包含 17 个 *OSCA*s 成员, 其中 6 个 *PtOSCA*s 成员 (包括 *PtOSCA6*、*PtOSCA7*、*PtOSCA10*、*PtOSCA11*、*PtOSCA13*)、5 个 *AtOSCA*s 成员 (主要包括 *AtOSCA2.1*~*AtOSCA 2.5*) 和 6 个 *CsOSCA*s 成员 (包括 *CsOSCA5*、*CsOSCA7*、*CsOSCA8*、*CsOSCA10*~*CsOSCA12*); III类包含 3 个 *OSCA*s 成员, 即 *PtOSCA3*、*AtOSCA3.1* 和 *CsOSCA3*; IV 类包含 3 个 *OSCA*s 成员, 即 *PtOSCA11*、*AtOSCA4.1* 和 *CsOSCA1*。系统发育分析结果表明: 枳 *OSCA*s 基因与拟南芥和甜橙 *OSCA*s 基因家族一同分为 4 个分支, 说明枳 *OSCA*s 基因家族经历了与拟南芥和甜橙 *OSCA*s 基因家族相似的进化历史。此外, *CsOSCA*s 基因与 *PtOSCA*s 基因之间的进化枝长度较短, 表明来自枳与甜橙的 *OSCA* 蛋白具有更高的相似性, 枳和甜橙之间的系统发育关系更加密切, 这与它们同属于柑橘亚科 *Aurantoideae* 有关。

2.3 枳 *OSCA* 基因结构及保守结构域分析

保守结构域、外显子-内含子结构及功能域比较

分析表明: 13 个 *PtOSCA*s 基因共分为 4 组 (图 2), 该基因家族的蛋白序列具有高度保守性, 所有成员均包含保守的 Motif 1 和 Motif 3 基序, 且这些基序排列顺序相同。I 类中的 Motif 基序最多, 其中 *PtOSCA1*、*PtOSCA2*、*PtOSCA4* 共享相同的 Motif 基序, 涵盖了 Motif 1~Motif 20。相比之下, II 类中的 *PtOSCA13* 和 IV 类中的 *PtOSCA11* 的 Motif 数量最少。基于 *PtOSCA*s 基因的编码序列 (coding sequence, CDS) 和相应的基因组 DNA 序列的可视化分析结果显示: 该基因家族大多数成员都富含内含子, 且其内含子分布模式相对保守, 多数基因具有相似数量的内含子。其中 I、II、III 和 IV 类基因的内含子数量分别为 10~11、9~12、5 和 1 个。

2.4 枳 *OSCA* 基因启动子顺式作用元件分析

对 13 个 *PtOSCA*s 基因上游 2 000 bp 的序列启动子区域中, 参与激素和非生物胁迫反应的顺式作用

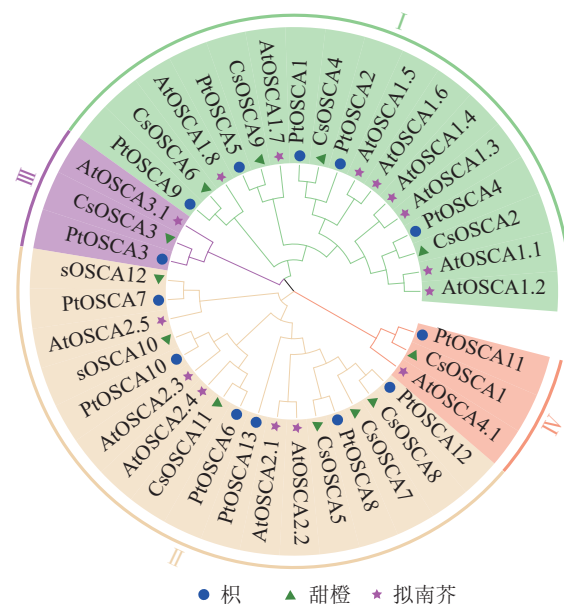


图 1 枳、甜橙、拟南芥的 *OSCA* 基因编码产物系统进化树

Figure 1 Phylogenetic tree of the coding products of the *OSCA* gene in *P. trifoliata*, *C. sinensis* and *A. thaliana*

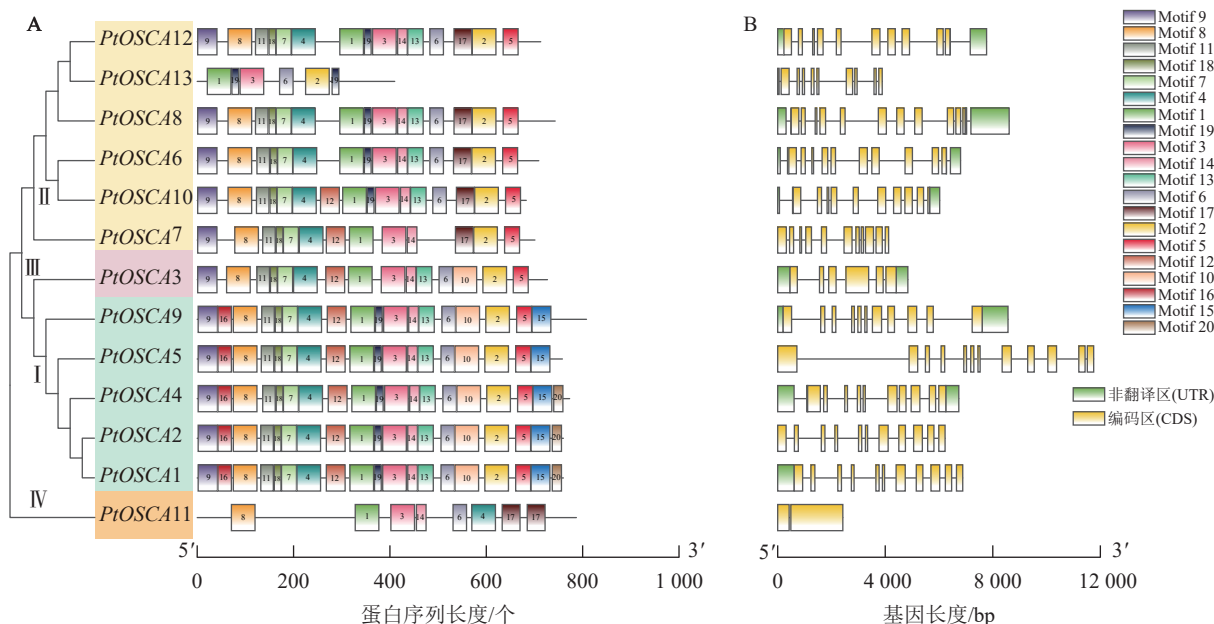


图 2 枳 *OSCA* 家族成员蛋白基序 (A) 和基因结构 (B) 分析

Figure 2 Analysis of conserved domains (A) and gene structure (B) of *OSCA* family members in *P. trifoliata*

元件进行预测 (图 3), 识别出 6 个胁迫相关的顺式作用元件, 即干旱诱导性的 MYB 结合位点 (MBS)、水杨酸响应元件 (TCA-element)、厌氧诱导响应元件 (ARE)、防御和应激反应响应顺式元件 (TC-rich)、伤口响应元件 (WUN-motif) 和低温响应元件 (LTR); 此外, 还包括 5 种激素相关顺式作用元件: 生长素响应元件 (TGA-element)、脱落酸响应元件 (ABRE)、赤霉素响应元件 (TATC-box/P-box)、茉莉酸甲酯 (MeJA) 响应元件 (TGACG-motif/CGTCA-motif)、乙烯响应元件 (ERE) 等。在 12 个 *PtOSCA*s 基因启动子区域中, 均可发现脱落酸响应的 ABRE 顺式作用元件以及厌氧诱导相关的 ARE 元件, 8 个 *PtOSCA*s 基因的启动子区域包含 LTR 元件, 5 个 *PtOSCA*s 基因启动子包含 TC-rich 元件, 这些基因可能在植物对胁迫的应答和应激反应发挥作用。进一步分析发现: 9 个 *PtOSCA*s 基因启动子区域含有 MBS 元件, 表明这些基因可能在干旱响应中发挥作用。由此, 推测 *PtOSCA*s 基因在非生物胁迫响应中具有关键作用。

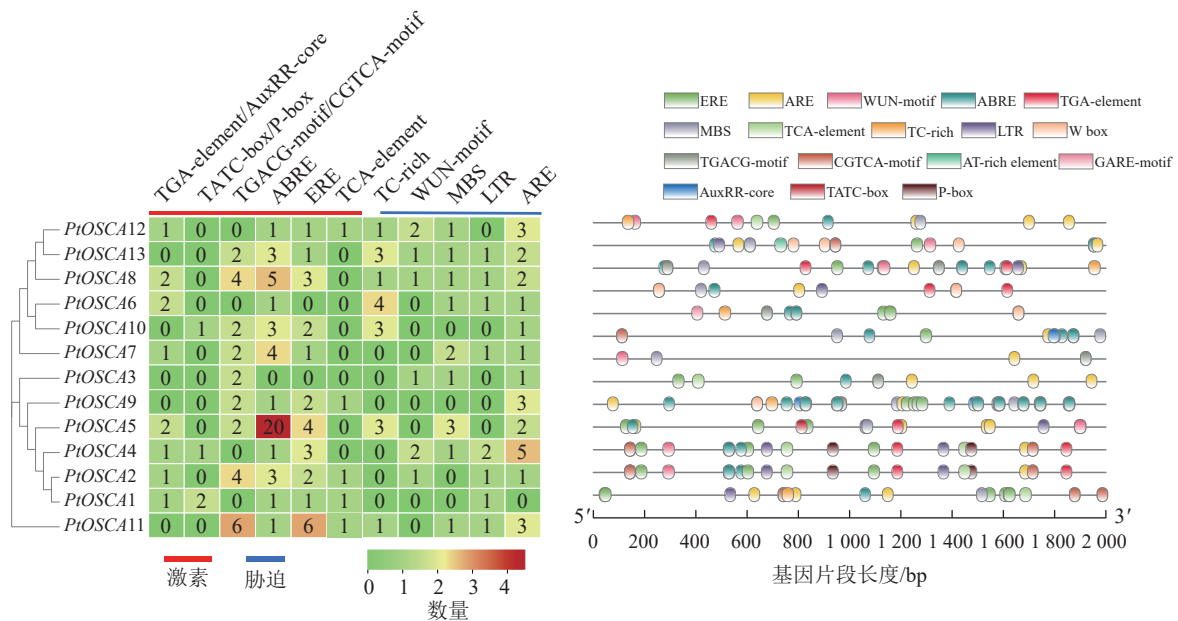


图 3 枳 *OSCA* 基因顺式作用元件
Figure 3 Cis-elements of *OSCA* genes in *P. trifoliata*

2.5 枳 *OSCA* 基因在不同组织和干旱胁迫根系中的表达谱分析

对枳果肉、叶、胚和根组织中 13 个 *PtOSCA*s 成员的相对表达水平进行分析, 绘制枳不同组织中 *PtOSCA* 基因表达模式热图 (图 4A)。在各组织中均未检测到 *PtOSCA13* 表达量, 其余 12 个基因在不同组织中表现出不同的表达模式。其中, *PtOSCA3* 和 *PtOSCA4* 在各组织中表达水平均较高, 表明其可能在枳生长发育阶段具有重要作用; *PtOSCA12* 和 *PtOSCA7* 在各组织中表达水平较低; *PtOSCA7* 在胚和根中无表达; *PtOSCA11* 在各组织中的表达基本一致, 不存在组织特异性表达。上述结果表明: *PtOSCA* 基因在枳进化过程中发生了功能进化。

分析枳根组织在不同干旱胁迫程度下的转录组 (图 4B)。结果显示: *PtOSCA13*、*PtOSCA7* 未检测到表达, *PtOSCA12* 表达水平极低, 其他 *PtOSCA*s 基因在轻度干旱、中度干旱和重度干旱胁迫下呈现显著的差异表达, 其表达模式分为三类。第一类包括 *PtOSCA1*~*PtOSCA6*、*PtOSCA8*, 它们的表达量随着干旱程度的加剧而上升, 且在各级胁迫组中的表达量均高于对照组 (正常水分供应); 第二类 *PtOSCA9* 则表现相反的趋势, 随着干旱程度的增加, 表达量下降, 且在胁迫组中的表达量低于对照组; 第三类基因 *PtOSCA10* 和 *PtOSCA11* 的表达量随着干旱程度的加剧保持平稳趋势, 且在各级胁迫组中的表达量均高于对照组。

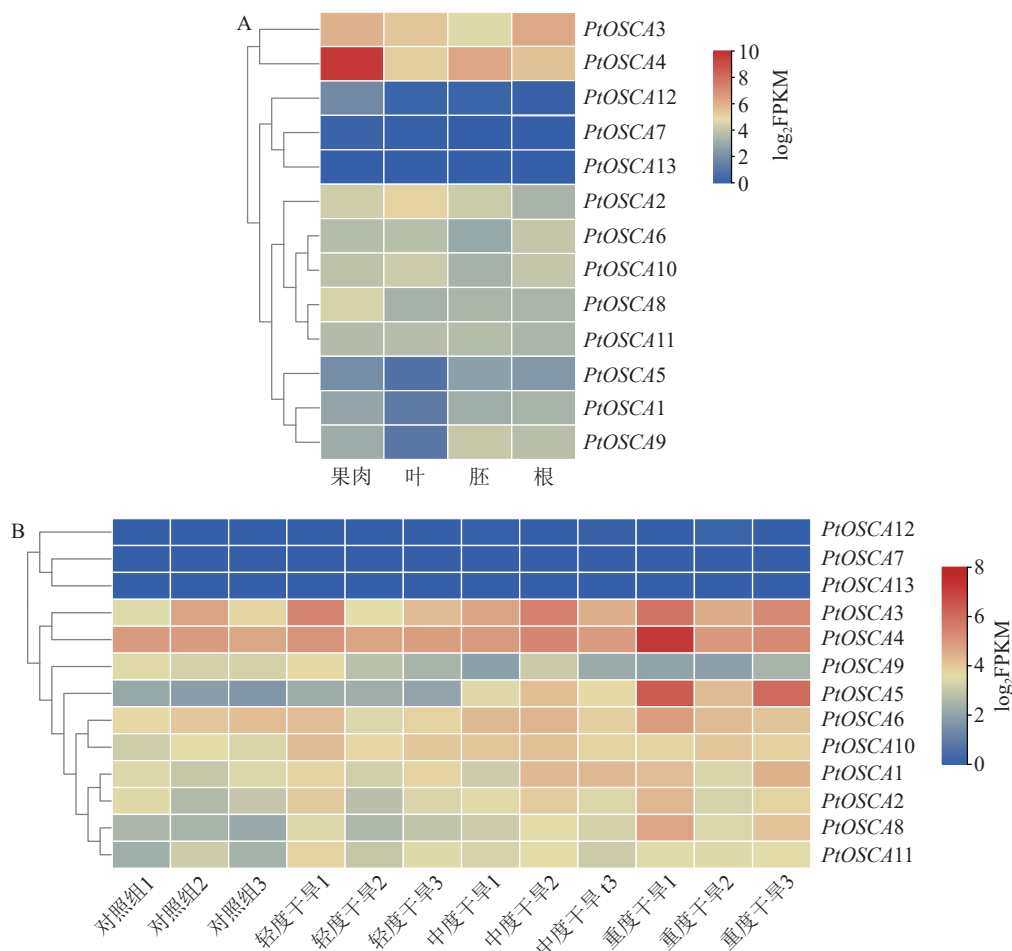


图 4 *PtOSCA* 基因在不同组织中 (A) 及响应干旱胁迫 (B) 的表达模式

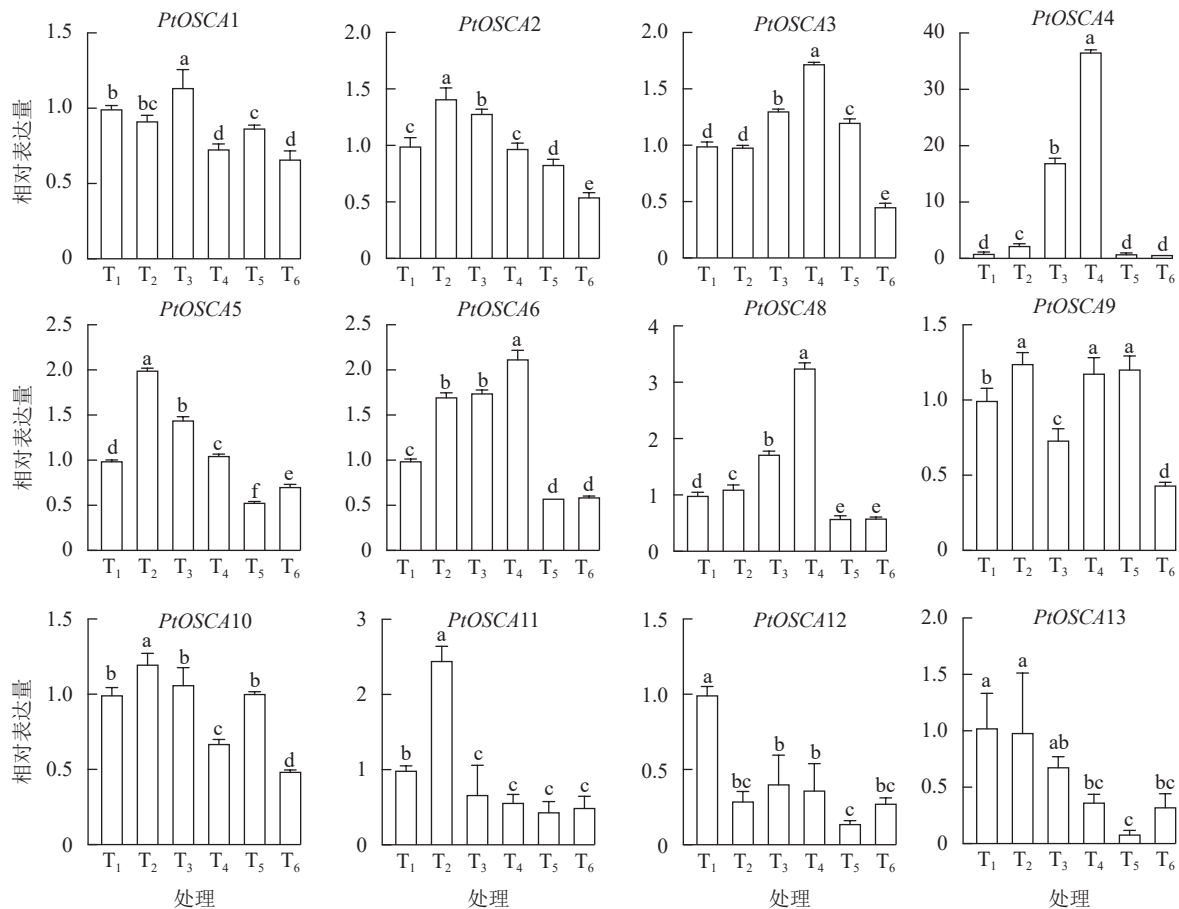
Figure 4 Expression patterns of *PtOSCA* in different tissues (A) and response to drought stress (B)

2.6 PEG 处理下枳 *OSCA* 基因表达模式分析

由图 5 和图 6 表明：*PtOSCA7* 基因在根和叶组织中未检测到，其余 *PtOSCAs* 基因在枳的根和叶中均有表达，且大多数 *PtOSCAs* 基因能够响应干旱胁迫。在枳根组织中，与对照 (0 min) 相比，*PtOSCA5* 和 *PtOSCA11* 在处理 5 min 时相对表达量显著上升，其相对表达量分别是对照的 2.00 和 2.46 倍；PEG 处理 1 h，*PtOSCA4*、*PtOSCA6* 和 *PtOSCA8* 相对表达量显著上升，其中 *PtOSCA4* 增幅最明显，达对照的 36.74 倍；*PtOSCA6* 和 *PtOSCA8* 相对表达量分别为对照的 2.13 和 3.26 倍；此外，*PtOSCA1* 在处理 20 min 时达到最高相对表达量，是对照的 1.14 倍；而 *PtOSCA12* 和 *PtOSCA13* 随处理时间的延长基因相对表达量逐渐降低，在 6 h 时达到最低点。在叶片中，*PtOSCA3~PtOSCA6*、*PtOSCA9*、*PtOSCA11* 和 *PtOSCA13* 在处理 6 h 时相对表达量显著上升，达到对照的 7.43、3.76、6.06、2.66、2.22、4.23 和 2.08 倍；*PtOSCA12* 基因的相对表达量在 24 h 内呈现先下降后上升再下降的趋势，20 min 时达到最低点，最高值出现在 6 h 时。综上，根部的大部分 *PtOSCAs* 基因在 PEG 处理 1 h 相对表达量达峰值，而在叶中则在 PEG 处理 1 h 后达到最高表达水平。与对照相比，干旱胁迫处理下 *PtOSCA4~PtOSCA6*、*PtOSCA11* 在根和叶中的表达显著上调，结果与转录组数据基本一致。

3 讨论

植物在生长阶段持续面临高温干旱、低温、盐害等多种环境胁迫^[18-19]。由于无法逃避这些有害环境，植物逐步形成了一套高效的信号传导系统和耐逆机制以应对环境变化。其中，*OSCA* 基因在植物 Ca^{2+} 信号转导途径中起着至关重要的作用^[20]。本研究对枳 *OSCA* 基因进行了全面分析，共鉴定出 13 个 *PtOSCA* 基因家族成员。研究发现：*PtOSCA* 蛋白的序列和理化特性差异很大，与其他植物的 *OSCA* 基因



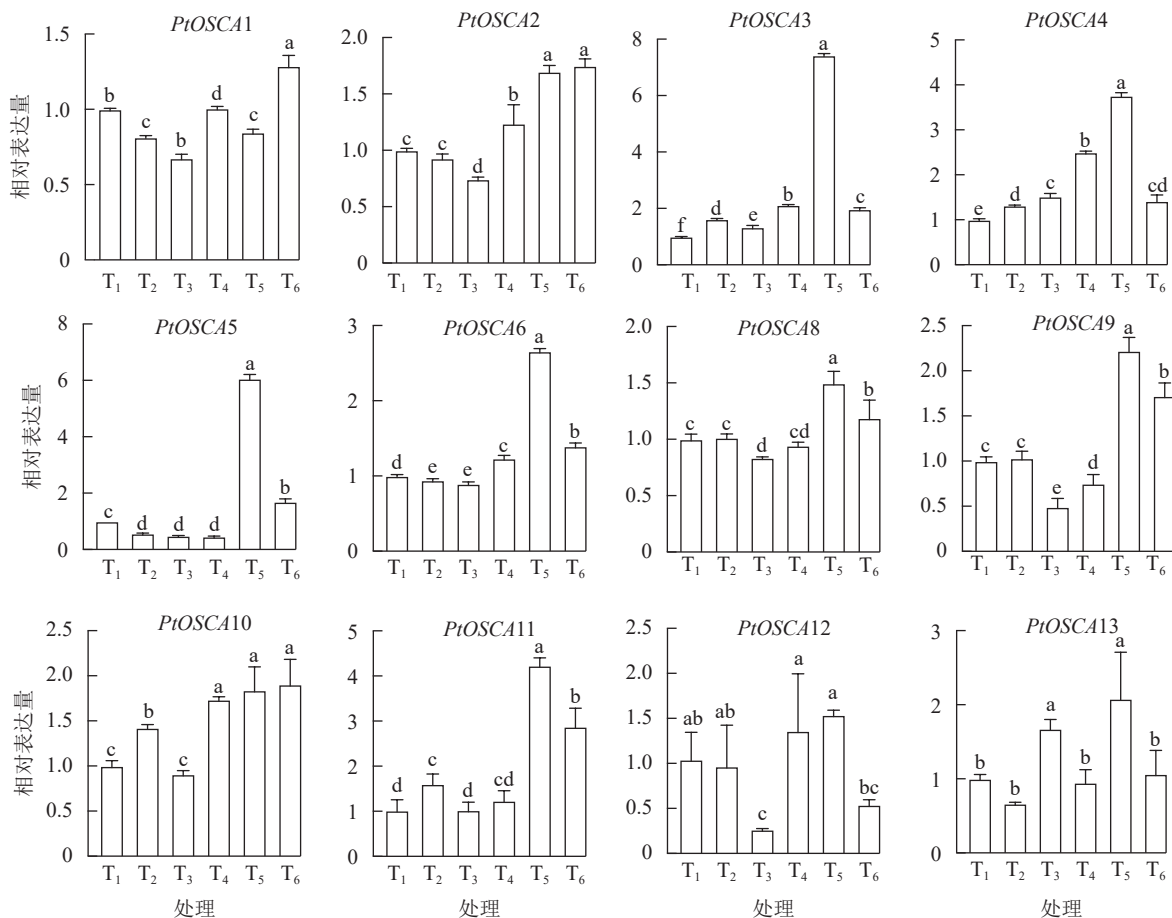
T₁: 0 min (对照); T₂: 5 min; T₃: 20 min; T₄: 1 h; T₅: 6 h; T₆: 24 h。不同小写字母表示同一基因不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

图 5 PEG 处理下枳 *PtOSCA*s 在根中的表达模式

Figure 5 Expression patterns of *PtOSCA*s in roots under PEG treatment

存在差别^[3-4, 6, 21-22]。系统进化树表明: *PtOSCA* 蛋白成员可分为 4 组, 这一结果与拟南芥^[3]、水稻^[4]、玉米^[6]、番茄^[21]和猕猴桃 *Actinidia chinensis*^[22]等的研究结果一致。每个分支都包含来自拟南芥、枳和甜橙的 *OSCA* 成员, 这表明 *OSCA* 家族的起源和多样化早于拟南芥、枳和甜橙的分化。*OSCA* 家族的第Ⅲ和Ⅳ组各含有 1 个基因, 它们在进化过程中未被淘汰, 可能在植物进化中具有重要作用。此外, 从进化树可以看出: 枳与甜橙之间表现出较高的垂直同源基因相似性, 这可能与它们均属于柑橘亚属, 亲缘关系密切相关。*OSCA* 基因家族在不同植物种类中的成员数量和分布差异可能是由基因组复制和功能分化导致的, 这表明枳中鉴定到的 13 个 *PtOSCA* 基因可能是通过基因家族扩展和多样化来适应不同生态环境。

*PtOSCA*s 基因保守结构域和基因结构分析显示: 枳 *OSCA* 蛋白家族的所有分支成员都含有保守基序 Motif 1 和 Motif 3, 且这些保守基序在不同分支中的分布位置高度一致。在基因结构方面, 枳 *OSCA* 家族的第Ⅰ、Ⅱ类基因内含子数量类似, 而分别属于Ⅲ类和Ⅳ类的 *PtOSCA3* 和 *PtOSCA11* 内含子数量相对较少。已有研究表明: 不同功能的基因往往经历不同程度的内含子获得和丢失, 并且物种间共享内含子的位点随着进化距离的增加而减少, 因此内含子的保守性可作为系统发育研究的重要标记, 进化保守的基因更倾向于保留内含子^[23]。此外, 内含子较少或缺失的基因转录时间较短, 能够在一定程度上提高基因的表达效率, 从而实现快速响应^[24]。特别是植物胁迫响应相关基因, 如 *ShOSCA3* 基因在低温、干旱、ABA 和灰霉菌 *Botrytis cinerea* 胁迫下均表现出显著的表达变化, 基因结构分析表明该基因不含内含子^[21], 这提示内含子数量可能与植物的环境适应性密切相关。本研究中 *PtOSCA11* 仅含有 1 个内含子, 在 PEG 处理 5 min 时, 其根部相对表达量较 0 min 时上调至 2.46 倍; 而具有 12 个内含子的 *PtOSCA8* 在 PEG 处理 6 h 后, 其根相对表达量较 0 min 时上调至 3.26 倍。尽管 *PtOSCA*s 基因的蛋白质结构和 CDS 序列内含子分布具有较高的保守性, 但不同基因在胁迫响应中的表达模式仍存在显著差异, 这种表达差异可能反映了 *PtOSCA*s 基因家族在进化过程中经历了功能分化。



T₁. 0 min (对照); T₂. 5 min; T₃. 20 min; T₄. 1 h; T₅. 6 h; T₆. 24 h. 不同小写字母表示同一基因不同处理间差异显著 ($P < 0.05$).

图6 PEG处理下枳 *PtOSCA*s 在叶中的表达模式

Figure 6 Expression patterns of *PtOSCA*s in leaves under PEG treatment

对 13 个 *PtOSCA*s 基因的启动子组件进行分析, 结果揭示了与主要激素 (TGA-element、ABRE、TGACG-motif/CGTCA-motif、TATC-box/P-box 和 ERE) 相关以及重要胁迫响应 (ARE、MBS、LTR、TCA-element、WUN-motil 和 TC-rich) 相关的不同类型的核心组件。如除 *PtOSCA3* 外, 所有基因都含有 ABRE 元件, 这表明 *PtOSCA3* 在 ABA 响应基因表达中发挥至关重要的作用^[25]。而且属于同一进化枝的 *PtOSCA*s 基因的启动子包含不同类型和数量的反应元件, 因此, 同一进化枝的不同基因可能表现出功能多样性, 也可能具有不同的作用机制。在进化枝 I 中, 仅有 *PtOSCA4* 和 *PtOSCA5* 含有与干旱反应相关的 MBS 元件。在 PEG 处理下, *PtOSCA4* 和 *PtOSCA5* 的相对表达量显著高于进化枝 I 中的其他 *PtOSCA*s, 该结果与上述基因在干旱胁迫处理下的相对表达量和转录组数据的结果一致, 这表明 *PtOSCA4* 和 *PtOSCA5* 可能在干旱胁迫响应中起到更重要的作用。枳 *PtOSCA* 基因家族启动子元件的分析显示: *PtOSCA1*、*PtOSCA2*、*PtOSCA9*、*PtOSCA10* 基因的启动子区域未检测到干旱胁迫响应元件, 不过在干旱胁迫下仍有一定的响应。在棉花中, *GhOSCA1.1*、*GhOSCA1.9*、*GhOSCA1.14* 和 *GhOSCA2.12* 没有盐碱胁迫响应元件, 但它们在盐碱胁迫条件下表达量显著上调^[26]。这些结果说明: 基因对胁迫的响应机制可能不完全依赖于启动子区域中的特定顺式作用元件。当植物受到特定胁迫时, 其他胁迫响应元件可能参与调控, 体现出不同顺式作用元件潜在的协同作用, 进而增强对胁迫的应答能力。

前人研究表明: 水稻多个 *OsOSCA*s 基因对盐胁迫、干旱胁迫及脱落酸处理作出响应, 其中至少 8 个基因在单一渗透胁迫条件下显著上调, 如 *OsOSCA1.1* 和 *OsOSCA3.1* 在 PEG 处理下的相对表达量可增加至 40 倍^[4]。玉米中 *ZmOSCA2.3* 和 *ZmOSCA2.4* 可响应 PEG 处理、盐胁迫和脱落酸处理, 其相对表达量增加了 200 倍以上且与脯氨酸含量一致, 将 *ZmOSCA2.4* 在拟南芥中过表达可显著提高拟南芥的抗旱能力^[6]。本研究通过分析 *PtOSCA* 的动态渗透胁迫响应表达模式, 发现枳 *OSCA* 基因家族响应干旱胁迫, 推测这可能与逆境调节相关。利用 RT-qPCR 检测了 *PtOSCA* 基因家族在 PEG 胁迫处理下相对表达

量, 结果显示: 几乎所有枳 *OSCA*s 基因均对干旱胁迫有所响应。其中 *PtOSCA4*~*PtOSCA6*、*PtOSCA11* 在干旱胁迫处理下, 根和叶组织中的表达上调非常明显, 这一结果与转录组数据基本一致。根中大部分 *PtOSCA*s 基因在 PEG 处理 1 h 内达到最高表达量, 而叶中则在 1 h 后达到最高。植物依靠植物顶端产生的蒸腾压力和根部产生的根压来吸收水分, 从而促使水分从根部向上运动, *PtOSCA*s 基因的不同表达模式符合水分由地下部运往地上部的过程时间差异。与其他 *PtOSCA* 家族成员相比, *PtOSCA4* 基因对干旱胁迫的响应最为显著, 在根组织中 1 h 时的表达量是 0 min 时的 36.74 倍, 因此在响应干旱胁迫过程中, *PtOSCA4* 可能发挥了关键作用, 由此推测 *PtOSCA4* 在干旱胁迫的响应通路中可能涉及一定的相互作用。已有研究表明: *AtOSCA1.1* (*At4g04340*) 是植株响应渗透胁迫的关键基因, 其编码的蛋白定位于根和叶细胞膜, 充当离子通道, 干旱胁迫下促进大量 Ca^{2+} 进入细胞^[27]; *AtOSCA1.2* (*At4g22120*) 与 *AtOSCA1.1* 有较高同源性, 在调节 Ca^{2+} 的渗透过程中起到重要作用, 该蛋白在高渗透压条件下能提升细胞内 Ca^{2+} 的含量^[8]。在本研究中, *PtOSCA4* 与 *AtOSCA1.1* 和 *AtOSCA1.2* 具有较高的序列相似性, 均属于进化树分支 I, 且在干旱胁迫下均能表现出强烈的响应。因此, *PtOSCA4* 可能与 *AtOSCA1.1*、*AtOSCA1.2* 在功能上存在一定的相似性, 推测 *PtOSCA4* 可能对渗透压较敏感且在抗旱中具有重要作用。

4 结论

本研究基于全基因组数据对枳 *OSCA* 基因家族进行了全面分析, 共鉴定出 13 个枳 *OSCA*s 基因, 并通过系统进化分析将它们划分为 4 个分支。枳 *OSCA* 基因家族的不同成员在各组织中对干旱胁迫的响应存在差异; 枳 *OSCA* 基因在进化过程中具有一定的保守性, 与拟南芥和甜橙有较近的亲缘关系; *PtOSCA4* 可能在响应干旱胁迫机制中发挥重要作用。本研究为深入解析枳 *OSCA* 基因的生物学功能及在干旱响应中的分子机制提供了重要的理论依据。

5 参考文献

- [1] 钟灶发, 张利娟, 高思思, 等. 干旱胁迫下 4 种柑橘砧木叶片细胞学特征及抗旱性比较[J]. 园艺学报, 2021, **48**(8): 1579–1588.
ZHONG Zaofa, ZHANG Lijuan, GAO Sisi, *et al.* Leaf cytological characteristics and resistance comparison of four citrus rootstocks under drought stress [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2021, **48**(8): 1579–1588.
- [2] 刘晓纳, 徐媛媛, 朱世平, 等. 不同柑橘砧木的耐旱性评价[J]. 果树学报, 2016, **33**(10): 1230–1240.
LIU Xiaona, XU Yuanyuan, ZHU Shiping, *et al.* Evaluation of drought tolerance in different citrus rootstocks [J]. *Journal of Fruit Science*, 2016, **33**(10): 1230–1240.
- [3] YUAN Fang, YANG Huimin, XUE Yan, *et al.* OSCA1 mediates osmotic-stress-evoked Ca^{2+} increases vital for osmosensing in *Arabidopsis* [J]. *Nature*, 2014, **514**(7522): 367–371.
- [4] LI Yunshuang, YUAN Fang, WEN Zhaohong, *et al.* Genome-wide survey and expression analysis of the *OSCA* gene family in rice[J/OL]. *BMC Plant Biology*, 2015, **15**(1): 261 [2024-12-26]. DOI: [10.1186/s12870-015-0653-8](https://doi.org/10.1186/s12870-015-0653-8).
- [5] YIN Lili, ZHANG Meiling, WU Ruigang, *et al.* Genome-wide analysis of *OSCA* gene family members in *Vigna radiata* and their involvement in the osmotic response[J/OL]. *BMC Plant Biology*, 2021, **21**(1): 408 [2024-12-26]. DOI: [10.1186/s12870-021-03184-2](https://doi.org/10.1186/s12870-021-03184-2).
- [6] CAO Liru, ZHANG Pengyu, LU Xiaomin, *et al.* Systematic analysis of the maize *OSCA* genes revealing *ZmOSCA* family members involved in osmotic stress and *ZmOSCA2.4* confers enhanced drought tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J/OL]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, **21**(1): 351 [2024-12-26]. DOI: [10.3390/ijms21010351](https://doi.org/10.3390/ijms21010351).
- [7] LIU Xin, WANG Jiawei, SUN Linfeng. Structure of the hyperosmolality-gated calcium-permeable channel *OSCA1.2* [J/OL]. *Nature Communications*, 2018, **9**: 5060 [2024-12-26]. DOI: [10.1038/s41467-018-07564-5](https://doi.org/10.1038/s41467-018-07564-5).
- [8] HOU Congcong, TIAN Wang, KLEIST T, *et al.* DUF221 proteins are a family of osmosensitive calcium-permeable cation channels conserved across eukaryotes [J]. *Cell Research*, 2014, **24**(5): 632–635.
- [9] 王傲雪, 张可为, 张瑶, 等. 番茄 *OSCA* 基因家族鉴定及不同胁迫条件下表达分析[J]. 东北农业大学学报, 2019, **50**(1): 19–28.
WANG Aoxue, ZHANG Kewei, ZHANG Yao, *et al.* Identification of tomato *OSCA* gene family and expression analysis under different stress conditions [J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2019, **50**(1): 19–28.
- [10] WEI Tonglu, WANG Yue, XIE Zongzhou, *et al.* Enhanced ROS scavenging and sugar accumulation contribute to drought

- tolerance of naturally occurring autotetraploids in *Poncirus trifoliata* [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2019, **17**(7): 1394–1407.
- [11] 黄奕孜, 钱旺, 邱姗, 等. 光皮桦 AP2/ERF 基因家族鉴定与表达分析[J]. *浙江农林大学学报*, 2022, **39**(6): 1183–1193.
HUANG Yizi, QIAN Wang, QIU Shan, *et al.* Identification and expression analysis of AP2/ERF gene family of *Betula luminifera* [J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2022, **39**(6): 1183–1193.
- [12] 张瑜, 吴才君, 苏文桢, 等. 西瓜 OSCA 基因家族全基因组鉴定及胁迫响应分析[J]. *南方农业学报*, 2021, **52**(12): 3330–3339.
ZHANG Yu, WU Caijun, SU Wenzhen, *et al.* Genome-wide identification and stress response analysis of OSCA gene family in watermelon [J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2021, **52**(12): 3330–3339.
- [13] TIAN Feng, YANG Dechang, MENG Yuqi, *et al.* PlantRegMap: charting functional regulatory maps in plants [J]. *Nucleic Acids Research*, 2020, **48**(D1): D1104–D1113.
- [14] LESCOT M. PlantCARE, a database of plant *cis*-acting regulatory elements and a portal to tools for in silico analysis of promoter sequences[J]. *Nucleic Acids Research*, **30**(1): 325–327.
- [15] 崔红丽, 孙明哲, 贾博为, 等. 蒺藜苜蓿 OSCA 基因家族鉴定及低温逆境表达分析[J]. *草业学报*, 2024, **33**(9): 111–125.
CUI Hongli, SUN Mingzhe, JIA Bowei, *et al.* Genome-wide analysis and expression of the OSCA family genes from *Medicago truncatula* in response to low temperature stresses [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2024, **33**(9): 111–125.
- [16] SHE Kuijun, PAN Wenqiu, YAN Ying, *et al.* Genome-wide identification, evolution and expressional analysis of OSCA gene family in barley (*Hordeum vulgare* L.) [J/OL]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, **23**(21): 13027 [2024-12-26]. DOI: [10.3390/ijms232113027](https://doi.org/10.3390/ijms232113027).
- [17] 陈梦瑶, 胡怡然, 郑志富, 等. 大豆 IGT 基因家族的全基因组鉴定及组织表达分析[J]. *浙江农林大学学报*, 2025, **42**(1): 64–73.
CHEN Mengyao, HU Yiran, ZHENG Zhifu, *et al.* Genome-wide identification and tissue expression analysis of IGT gene family in soybean [J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2025, **42**(1): 64–73.
- [18] GUO Meng, LIU Jinhong, LU Jinping, *et al.* Genome-wide analysis of the *CaHsp20* gene family in pepper: comprehensive sequence and expression profile analysis under heat stress [J/OL]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, **6**: 806 [2024-12-26]. DOI: [10.3389/fpls.2015.00806](https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00806).
- [19] CHEN Xuexue, DING Yanglin, YANG Yongqing, *et al.* Protein kinases in plant responses to drought, salt, and cold stress [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2021, **63**(1): 53–78.
- [20] SU Ruiping, WANG Yuning, CUI Ping, *et al.* Isolation of OSCAs in wheat and over-expression of *TaOSCA14D* increased salt stress tolerance [J/OL]. *Journal of Plant Physiology*, 2025, **306**: 154449 [2024-12-26]. DOI: [10.1016/j.jplph.2025.154449](https://doi.org/10.1016/j.jplph.2025.154449).
- [21] MIAO Shuang, LI Fengshuo, HAN Yang, *et al.* Identification of OSCA gene family in *Solanum habrochaites* and its function analysis under stress [J/OL]. *BMC Genomics*, 2022, **23**(1): 547 [2024-12-26]. DOI: [10.1186/s12864-022-08675-6](https://doi.org/10.1186/s12864-022-08675-6).
- [22] 徐子怡, 罗晨宇, 占坤, 等. 猕猴桃 OSCA 基因家族鉴定及其在非生物胁迫下的表达分析[J]. *果树学报*, 2024, **41**(3): 436–447.
XU Ziyi, LUO Chenyu, ZHAN Kun, *et al.* Genome-wide identification of OSCA gene family members and their expression analysis under different abiotic stresses in kiwifruit [J]. *Journal of Fruit Sciences*, 2024, **41**(3): 436–447.
- [23] 曹军. 真核生物内含子研究进展[J]. *生物过程*, 2011, **1**: 9–12.
CAO Jun. Research progress in eukaryotic intron [J]. *Bioprocess*, 2011, **1**: 9–12.
- [24] ZHAO Peng, WANG Dongdong, WANG Ruoqiu, *et al.* Genome-wide analysis of the potato *Hsp20* gene family: identification, genomic organization and expression profiles in response to heat stress [J/OL]. *BMC Genomics*, 2018, **19**(1): 61 [2024-12-26]. DOI: [10.1186/s12864-018-4443-1](https://doi.org/10.1186/s12864-018-4443-1).
- [25] JI Lexiang, WANG Jia, YE Meixia, *et al.* Identification and characterization of the *Populus* AREB/ABF subfamily [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2013, **55**(2): 177–186.
- [26] ABBASI H, JAMIL M, HAQ A, *et al.* Salt stress manifestation on plants, mechanism of salt tolerance and potassium role in alleviating it: a review [J]. *Zemdirbyste-Agriculture*, 2016, **103**(2): 229–238.
- [27] ZHANG Heng, ZHAO Yang, ZHU Jiankang. Thriving under stress: how plants balance growth and the stress response [J]. *Developmental Cell*, 2020, **55**(5): 529–543.