浙 江 农 林 大 学 学 报, 2026, **43**(X): 1−14 https://zlxb.zafu.edu.cn
Journal of Zhejiang A&F University DOI: 10.11833/j.issn.2095-0756.20260291

引用格式: 马婉璐, 夏辉, 李朝阳, 等. 桂花 *OfHSP20* 基因家族全基因组鉴定及表达分析[J]. 浙江农林大学学报, 2026, **43**(X): 1−14. MA Wanlu, XIA Hui, LI Zhaoyang, *et al*. Genome-wide identification and expression analysis of the *OfHSP20* gene family in *Osmanthus fragrans*[J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2026, **43**(X): 1−14.

桂花 *OfHSP20* 基因家族全基因组鉴定及表达分析

马婉璐[1,2], 夏　辉[3], 李朝阳[2], 邹晶晶[2], 张莹婷[1,2], 陈洪国[1,2]

（1. 湖北科技学院 药学院，湖北 咸宁 437100；2. 湖北科技学院 核技术与化学生物学院 桂花国家林业和草原局重点实验室，湖北 咸宁 437100；3. 中南林业科技大学 林学院 木本油料资源利用全国重点实验室，湖南 长沙 410018）

摘要：【目的】探究桂花 *Osmanthus fragrans OfHSP20* 基因家族的分子特征及在非生物胁迫响应中的潜在功能，为环境适应机制解析及分子育种提供理论依据。**【方法】**基于‘柳叶金桂’‘Liuyejingui’全基因组数据，采用生物信息学方法系统鉴定 *OfHSP20* 家族成员，对其理化性质、亚细胞定位、基因结构、系统发育关系、顺式作用元件及共线性关系等进行综合分析，并结合实时荧光定量聚合酶链式反应 (RT-qPCR) 技术，分析该家族基因在不同组织、不同开花阶段及非生物胁迫下的表达模式。**【结果】**共鉴定出 37 个 *OfHSP20* 基因，其编码蛋白分子量为 15.258~39.932 kDa，多数为亲水性蛋白，主要定位于细胞质。系统发育分析表明：*OfHSP20* 基因家族可分为 10 个亚家族，与拟南芥 *Arabidopsis thaliana HSP20* 基因高度进化保守，均含核心 α-晶体蛋白结构域，且外显子以 1~2 个为主。启动子区域分析显示：*OfHSP20* 基因富含光、逆境、激素及生长发育响应相关顺式作用元件。RT-qPCR 分析表明：*OfHSP20* 基因在盛花期相对表达量达峰值，并在非生物胁迫下表现出特异性表达。其中，多数基因显著响应高温胁迫，而 *OfHSP20_3*、*OfHSP20_5* 和 *OfHSP20_19* 为广谱胁迫响应基因，在高温、低温、盐及干旱共 4 种非生物胁迫处理后均显著上调 ($P<0.05$)。**【结论】**系统阐明 *OfHSP20* 基因家族的结构特征、进化关系及表达模式，揭示其在生长发育及非生物胁迫响应中的潜在作用。图 7 表 4 参 30

关键词：桂花；*OfHSP20*；基因家族；进化分析；表达分析

中图分类号：S722　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**2095-0756(2026)00-0001-14

Genome-wide identification and expression analysis of the *OfHSP20* gene family in *Osmanthus fragrans*

MA Wanlu[1,2], XIA Hui[3], LI Zhaoyang[2], ZOU Jingjing[2], ZHANG Yingting[1,2], CHEN Hongguo[1,2]

（1. College of Pharmacy, Hubei University of Science and Technology, Xianning 437100, Hubei, China; 2. Key Laboratory of National Forestry and Grassland Administration of *Osmanthus fragrans*, College of Nuclear Technology and Chemical Biology, Hubei University of Science and Technology, Xianning 437100, Hubei, China; 3. State Key Laboratory of Utilization of Woody Oil Resources, College of Forestry, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410018, Hunan, China）

Abstract: [**Objective**] This study aims to investigate the molecular characteristics of the *OfHSP20* gene family in *Osmanthus fragrans* and its potential role in abiotic stress responses, so as to provide a theoretical support for clarifying environmental adaptation mechanisms and molecular breeding. [**Method**] Based on the whole-genome sequence of *O. fragrans* ‘Liuyejingui’, members of the *OfHSP20* family were systematically identified

收稿日期：2026-05-23；修回日期：2026-10-10

基金项目：国家自然科学基金青年基金项目 (32401647)；湖北省青年科技人才培养专项项目 (2025DJA045)；湖北省青年科技人才资助项目 (E 科协版 2025〔67〕)；咸宁市科技人才专项 (2025RCFW006)

作者简介：马婉璐 (ORCID: 0009-0005-4798-091X)，从事桂花高效栽培研究。E-mail: m18768973198@163.com。通信作者：陈洪国 (ORCID: 0000-0003-3686-8699)，教授，从事桂花高效栽培研究。E-mail: Chen_Hongguo1969@163.com

using bioinformatics approaches. Their physicochemical properties, subcellular localization, gene structures, phylogenetic relationships, *cis*-acting elements, and collinearity relationships were comprehensively analyzed. In addition, quantitative real-time PCR (RT-qPCR) was employed to examine the expression patterns of this gene family across different tissues, flowering stages, and abiotic stress conditions. [**Result**] A total of 37 *OfHSP20* genes were identified, with their encoded protein molecular weights ranging from 15.258 to 39.932 kDa, most of which were hydrophilic proteins mainly located in the cytoplasm. Phylogenetic analysis revealed that the *OfHSP20* family could be divided into 10 subfamilies, which were highly evolutionarily conserved with *HSP20* genes from *Arabidopsis thaliana*. All of them contained the core *α*-crystallin protein domain, and the exons were mainly 1 to 2 in number. Promoter analysis indicated that *OfHSP20* genes were rich in *cis*-acting elements associated with light, stress, hormones, and growth and development responses. RT-qPCR analysis demonstrated that the expression of *OfHSP20* genes reached its peak at the full-bloom stage and exhibited specific expression under abiotic stress. Among them, most genes responded significantly to heat stress, while *OfHSP20_3*, *OfHSP20_5*, and *OfHSP20_19* were broad-spectrum stress-responsive genes that were significantly upregulated after all four abiotic stress treatments (heat, cold, salt, and drought) ($P<0.05$). [**Conclusion**] This study systematically characterizes the structural characteristics, evolutionary relationships and expression patterns of the *OfHSP20* gene family in *O. fragrans*, revealing its potential role in plant growth, development, and abiotic stress responses. [Ch, 7 fig. 4 tab. 30 ref.]

Key words: *Osmanthus fragrans*; *OfHSP20*; gene family; evolutionary analysis; expression analysis

桂花 *Osmanthus fragrans* 隶属于木犀科 Oleaceae，是中国十大传统名花之一[1]，兼具观赏、经济与药用价值[2]。其花中富含紫罗兰酮[3]、芳樟醇[4] 等萜类挥发性成分，被广泛用于食品、化妆品及芳香疗法等领域[5]。桂花主要分布在亚热带地区[6]，其生长发育易受到高温、低温、干旱和盐胁迫等环境因素限制，因此，深入解析桂花的环境响应分子调控机制，挖掘其逆境适应相关基因资源，对于拓展种植范围和促进分子育种具有重要意义。

热休克蛋白 (heat shock proteins，HSP) 是一类进化高度保守的分子伴侣蛋白，可在胁迫条件下维持细胞蛋白质稳态，防止蛋白质错误折叠和异常聚集，从而维持蛋白质稳态及正常空间构象[7]。*HSP20* 以保守的 *α*-晶体蛋白结构域 (ACD) 为核心特征，多数不依赖三磷酸腺苷 (ATP) 发挥功能，通常以寡聚体形式参与蛋白保护过程[8]。目前，*HSP20* 基因家族已在拟南芥 *Arabidopsis thaliana*[9]、桃 *Prunus persica*[10]、苹果 *Malus domestica*[11] 等多种植物中被系统鉴定，并被证实参与植物生长发育及逆境响应。然而，目前关于桂花 *HSP20* 基因家族成员组成、进化特征及逆境响应功能的系统研究尚未见报道。

本研究基于‘柳叶金桂’‘Liuyejingui’全基因组数据，利用生物信息学方法系统鉴定桂花 *OfHSP20* 基因家族成员，综合解析其理化性质、染色体定位、基因结构、系统发育关系、顺式作用元件、共线性关系等。此外，通过实时荧光定量聚合酶链式反应 (RT-qPCR) 技术分析该基因家族在不同组织、不同开花阶段及多种非生物胁迫条件下的表达模式，初步揭示其在桂花生长发育和逆境响应中的潜在功能，为深入解析其环境适应机制及分子育种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究不同试验模块分别选用 3 个桂花栽培品种作为试验材料，各品种依据试验目标适配选用。‘嫦娥’‘Chang’e’品种的无性系苗遗传背景一致、个体差异小，可最大程度降低试验误差，适用于非生物胁迫处理试验；‘潢川金桂’‘Huangchuan Jingui’成年植株树体大、组织器官齐全，可获取足量根、茎、叶等不同组织样品，适用于基因组织表达特异性分析；‘柳叶金桂’开花物候期特征清晰，各阶段辨识度高，且本研究全基因组参考序列来源于该品种，适用于开花阶段表达分析及生物信息学分析。

以‘嫦娥’无性系苗为试验材料，选取长势一致的无性系苗进行 4 种胁迫试验，培养条件设置：光周期为 12 h/12 h (光照/黑暗)、光照强度为 120 μmol·m^{-2}·s^{-1}、相对湿度为 60%、温度为 25 ℃。低温胁迫：将植株移至 4 ℃ 培养箱中培养；高温胁迫：将植株移至 38 ℃ 培养箱中培养；盐胁迫：每株浇灌 200 mL 300 mmol·L^{-1} 氯化钠溶液；干旱胁迫：每株浇灌 200 mL 20% (*m*/*v*) PEG-6000 溶液。4 种胁迫分别于处理后 0、3、6、12、24、72 h 采集植株中部健康叶片。每个处理设 3 个生物学重复，每个重复由 4 株无性系苗混合取样，样品液氮速冻后于 −80 ℃ 保存。

选取湖北科技学院内生长健壮的‘潢川金桂’成年植株作为试验材料，分别采集根、茎、叶、种子和花 5 个组织样品。以华中农业大学校园内 1 株生长健壮、无病虫害的‘柳叶金桂’为试验材料，连续 3 个独立采集日的 10:00 采集花样品，每次采样作为 1 个独立生物学重复。每个生物学重复均从植株南向枝条上采集不同开花阶段的花瓣组织，包括铃梗期 (S1，簇生花序开始分散延伸，花梗逐渐伸长)、香眼期 (S2，花被纹理明显，花顶端出现孔隙，香气开始释放)、初花期 (S3，大部分花处于半闭合状态，花梗挺立，花色较浅)、盛花期 (S4，大部分或近全部花呈开放状态，花被反卷下垂，花色较深) 和末花期 (S5，花完全开放，花瓣出现一定程度褶皱)[12]。样品于 −80 ℃ 冻存。

1.2　实验方法

1.2.1　*HSP20* 基因鉴定与 *OfHSP20* 系统进化树分析　从 OfIR 网站数据库 (https://yanglab.hzau.edu.cn/OfIR/home/) 中下载‘柳叶金桂’的全基因组序列、CDS 序列、蛋白质序列和 GFF3 注释文件。采用同源比对和结构域搜索方法对 *OfHSP20* 基因家族成员进行鉴定。首先，从拟南芥 *Arabidopsis thaliana* 基因组数据库 (https://www.arabidopsis.org/) 中下载 AtHSP20 蛋白序列作为查询蛋白，利用 BLAST 基于期望值 (*E*，代表随机条件下获得同等匹配得分的概率，*E* 越小同源可信度越高)＜10^{-5} 在桂花蛋白数据库中进行同源比对筛选，获得候选 *OfHSP20* 家族基因。其次，从 Pfam 数据库 (https://pfam.xfam.org/) 获取 ACD 结构域 (PF00011) 的隐马尔可夫模型 (HMM) 文件，利用 HMMER 3.0 软件，基于 *E*＜10^{-5} 对桂花蛋白序列数据库进行搜索，筛选潜在的 *OfHSP20* 家族成员。合并并去除冗余序列后，经 SMART(http://smart.embl.de/) 与 CDD 数据库 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb /bwrpsb.cgi) 验证保守结构域，剔除无典型 ACD 结构域及分子量不在 15~42 kDa 范围内的序列，最终获得 *OfHSP20* 基因家族成员，并按染色体定位顺序命名。

利用 MEGA 11 软件，通过 MUSCLE 方法对桂花与拟南芥 HSP20 蛋白序列进行多序列比对，采用邻接法 (neighbor-joining，NJ) 构建系统发育树，bootstrap 重复 1 000 次，其余参数均采用默认设置。

1.2.2　OfHSP20 家族蛋白理化性质分析、结构分析及亚细胞定位预测　利用 ProtParam ExPASy 工具 (https://web.expasy.org/protparam/) 分析 OfHSP20 蛋白的理化性质，包括蛋白质长度 (aa)、分子量 (MW)、等电点 (PI)、亲水性等。利用 SOPMA (https://npsa.lyon.inserm.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_sopma.html) 和 SWISS-MODEL (https://swissmodel.expasy.org/) 网站，分别对 OfHSP20 蛋白二级和三级结构进行预测和可视化分析。通过 WolfPsort (https://wolfpsort.hgc.jp/) 预测 OfHSP20 蛋白的亚细胞定位。

1.2.3　*OfHSP20* 基因家族保守结构域和保守基序分析　利用 MEME 工具 (https://meme-suite.org/meme/tools/meme) 系统解析 OfHSP20 家族蛋白保守基序。基于桂花基因组注释文件 (GFF3) 提取所有 *OfHSP20* 基因的基因组序列，分析其外显子、内含子和非翻译区 (UTR) 结构，并利用 GSDS 2.0 服务器 (http://gsds.gao-lab.org/) 可视化基因的结构特征。

1.2.4　*OfHSP20* 基因启动子的顺式元件分析　采用 TBtools 软件从桂花基因组注释文件中提取 *OfHSP20* 基因起始密码子 (ATG) 上游 2 kb 的启动子序列，通过 PlantCARE (http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/) 进行顺式作用元件预测，并对不同功能类型的元件进行统计与可视化。

1.2.5　染色体定位及共线性分析　利用 TBtools 软件从桂花基因组注释文件中提取 *OfHSP20* 基因的染色体位置信息并进行可视化。通过 MCscanX 多重共线性分析包分析拟南芥和桂花的 *HSP20* 基因复制事件和共线性关系[13]。利用 KaKs 计算器 (Nei-Gojobori 法) 计算每对重复 *HSP20* 基因的同义替换率 (K_s) 和非同义替换率 (K_a) 及 K_a/K_s 比值[14]，以评估 *HSP20* 基因复制事件的选择压力及进化模式。

1.2.6　RNA 提取和 RT-qPCR 分析　使用 HiPure Plant RNA Mini Kit (美基生物) 提取总 RNA，并使用

HiScript® III RT SuperMix for qPCR (+gDNA wiper) 试剂盒 (诺唯赞) 将 1 μg RNA 逆转录合成 cDNA。基于桂花转录组的每千个碱基转录每百万映射读取的片段 (FPKM) 表达数据 ($FPKM_{max}$＞5)，从不同亚家族中筛选 10 个表达丰度较高的代表性基因进行 RT-qPCR 验证。按照 *Taq* Pro Universal SYBR qPCR Master Mix (诺唯赞) 进行 RT-qPCR。使用 Primer 5 设计荧光定量引物，并在 OfIR (https://yanglab.hzau.edu.cn/OfIR/home/) 网站对引物序列进行 e-PCR 以检测引物特异性。所有引物由擎科生物合成 (表 1)，引物浓度为 10 μmol·L^{-1}。RT-qPCR 反应体系为 10 μL，包括 1 μL 10 倍稀释 cDNA、0.4 μL 正反向引物、5 μL 2×*Taq* Pro Universal SYBR 酶和 3.6 μL ddH_2O。扩增程序：95 ℃ 预变性 30 s；95 ℃ 变性 10 s，60 ℃ 退火/延伸 30 s，共 40 个循环；随后进行 72 ℃ 延伸 10 s。每个处理包括 3 个独立生物学重复和 3 个技术重复。以 *RAN1* 为内参[15]，采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 计算基因相对表达量，并通过 GraphPad Prism 软件进行单因素方差分析 (one-way ANOVA) 和制图。

表 1 *OfHSP20* 基因引物设计

Table 1 Primer design for *OfHSP20* genes

基因名称	正向引物序列(5′→3′)	反向引物序列(5′→3′)
LYG007169	CGTCAAGGAGCCTAAGCCA	CCTCGCCTTTGATGATTAGAGTATT
LYG007752	GGACCCATTTTTCTCCGAGC	CACAATCAAATCGCTCTCTGC
LYG003321	AAAAAAATGGTGTCATCCGCTG	AACAACGGACTGAACAGAGACCT
LYG005027	GGTTCCTGGGATTTGACGC	CACTTATCACAAGCACATTTCCATC
LYG009520	ACCGCTCCTGCCCATAAAC	TCACCACCTTCAGAAACAGCC
LYG013784	CCTGTGGCAGTGGACATTCTT	GGGTGTCTTCCTCTCTATCCTTATG
LYG016771	GCTTTCTCGTATTGGCTATGGC	CGATTCCTTTAGGGATGGCA
LYG022169	ATCCCTTTCGGCGTTTATTATG	CATTGATTTTGAAGATGTGGGC
LYG025393	ACCGAGTCTGAAGAAAAATCCC	TGGCAGATTTTCCAATACCCT
LYG012171	CTCCCGACTCTCCATCCCTCTA	GGCGGAGTAGATGTGAGATTCG

2 结果与分析

2.1 *OfHSP20* 基因家族成员鉴定和理化性质分析

经同源对比与结构域筛选，共鉴定出 37 个 *OfHSP20* 家族成员。根据这些基因在染色体上的位置，依次命名为 *OfHSP20_1*~*OfHSP20_37* (表 2)。理化性质分析显示，蛋白长度由 134~360 个氨基酸构成，分子量为 15.258~39.932 kDa；等电点 (pI) 为 4.66~9.40，其中酸性蛋白 (等电点＜7) 占 70.27%；平均亲水系数均为负数，表明 OfHSP20 蛋白均为亲水性蛋白。

亚细胞定位预测结果显示：OfHSP20 蛋白主要分布于细胞质，为 20 个，其次是叶绿体，为 11 个，少数分布于细胞核、液泡、线粒体及胞外，表明 OfHSP20 家族蛋白主要在细胞质中发挥作用。

蛋白二级结构预测显示：OfHSP20 蛋白主要由 α-螺旋、延伸链和无规则卷曲组成，其中无规则卷曲占比最高，为 48.97%~70.00%(表 3)。OfHSP20 蛋白三级结构同样以 α-螺旋、延伸链及无规则卷曲为主要组成单元，与二级结构预测结果高度一致 (图 1)，进一步说明 OfHSP20 蛋白具有较保守的结构特征。

2.2 系统进化关系

对拟南芥和桂花 HSP20 蛋白进行系统发育分析，HSP20 蛋白被划分成 12 个亚家族，其中 37 个 OfHSP20 蛋白分布在 10 个亚家族 (图 2)。根据亚细胞定位特征，OfHSP20 蛋白被分为 5 个亚类，包括细胞质/细胞核定位的 C 类 (CI~CVII)、线粒体定位的 M 类 (MI 和 MII)、叶绿体定位的 P 类、内质网定位的 ER 类以及过氧化物酶体定位的 PO 类。

OfHSP20 家族中，C 类成员数量最多，共 25 个。其中，CI 亚家族包含 10 个成员 (*OfHSP20_1*、*OfHSP20_6*、*OfHSP20_7*、*OfHSP20_14*、*OfHSP20_15*、*OfHSP20_20*、*OfHSP20_25*、*OfHSP20_26*、*OfHSP20_27* 和 *OfHSP20_34*)，CII 亚家族包含 7 个成员 (*OfHSP20_3*、*OfHSP20_4*、*OfHSP20_8*、*OfHSP20_9*、

表 2　*OfHSP20* 基因家族的理化性质

Table 2　Physicochemical properties of the *OfHSP20* gene family

基因名称	基因编号	氨基酸数量/个	分子量/ kDa	等电点	不稳定性指数	脂肪族指数	平均亲水系数	亚细胞定位
OfHSP20_1	LYG00053	137	15.523	5.77	44.99	92.34	−0.358	叶绿体、细胞质
OfHSP20_2	LYG003321	190	21.821	5.88	40.65	73.32	−0.667	细胞核
OfHSP20_3	LYG005027	157	17.393	6.17	34.46	81.27	−0.370	细胞质
OfHSP20_4	LYG005028	156	17.442	7.88	37.90	78.65	−0.529	细胞质
OfHSP20_5	LYG007169	196	22.648	7.69	60.52	76.53	−0.679	叶绿体
OfHSP20_6	LYG007752	160	18.294	6.08	41.79	54.81	−0.622	细胞核
OfHSP20_7	LYG008275	179	20.372	6.21	61.34	77.82	−0.515	细胞质
OfHSP20_8	LYG008344	157	17.557	6.84	40.26	80.06	−0.456	细胞质
OfHSP20_9	LYG008348	157	17.503	6.31	31.36	78.22	−0.425	细胞质
OfHSP20_10	LYG009520	210	23.486	6.77	49.36	90.90	−0.417	线粒体
OfHSP20_11	LYG009626	213	24.485	7.77	61.74	76.71	−0.617	叶绿体
OfHSP20_12	LYG009627	238	27.359	4.66	67.99	64.66	−1.092	液泡
OfHSP20_13	LYG011810	157	17.647	7.84	40.13	75.73	−0.518	细胞质
OfHSP20_14	LYG012070	159	17.847	5.84	61.14	72.89	−0.613	细胞质
OfHSP20_15	LYG012072	164	18.732	6.35	60.81	71.83	−0.616	细胞质
OfHSP20_16	LYG012147	134	15.371	6.37	55.00	79.25	−0.475	细胞质
OfHSP20_17	LYG012171	136	15.604	6.37	54.12	78.09	−0.459	细胞质
OfHSP20_18	LYG013122	220	24.504	9.40	53.28	78.45	−0.617	叶绿体
OfHSP20_19	LYG013784	191	21.524	6.75	46.60	88.69	−0.375	细胞核
OfHSP20_20	LYG013965	134	15.258	6.19	50.84	79.25	−0.704	细胞质
OfHSP20_21	LYG014163	210	23.727	6.85	60.50	67.81	−0.743	液泡
OfHSP20_22	LYG016771	192	21.812	6.46	46.54	94.58	−0.348	胞外
OfHSP20_23	LYG018975	296	33.881	9.31	43.89	73.78	−0.853	液泡
OfHSP20_24	LYG020045	292	33.334	4.84	58.28	76.03	−0.805	细胞质
OfHSP20_25	LYG020639	159	18.266	5.82	56.63	70.44	−0.757	细胞质
OfHSP20_26	LYG021049	174	19.846	5.57	59.26	68.28	−0.723	细胞质
OfHSP20_27	LYG021050	157	18.085	5.56	57.06	71.97	−0.813	细胞质
OfHSP20_28	LYG022169	161	18.175	7.87	44.21	100.37	−0.146	细胞质
OfHSP20_29	LYG024210	224	25.327	8.60	42.13	76.56	−0.632	叶绿体
OfHSP20_30	LYG024334	202	22.606	8.40	48.79	96.44	−0.309	叶绿体
OfHSP20_31	LYG025393	227	25.769	7.70	64.81	67.40	−0.782	叶绿体
OfHSP20_32	LYG026794	216	24.502	5.63	54.82	70.32	−0.630	叶绿体
OfHSP20_33	LYG028583	360	39.932	9.29	38.21	65.50	−0.983	叶绿体
OfHSP20_34	LYG035872	154	17.885	6.36	59.85	65.71	−0.856	叶绿体、细胞质
OfHSP20_35	LYG039778	157	17.561	6.84	38.07	80.06	−0.450	细胞质
OfHSP20_36	LYG039781	157	17.503	6.31	31.36	78.22	−0.425	细胞质
OfHSP20_37	LYG039866	231	26.119	8.82	46.24	67.10	−0.638	叶绿体

OfHSP20_13、*OfHSP20_35* 和 *OfHSP20_36*)，CIII 亚家族包含 1 个成员 (*OfHSP20_19*)，CVI 亚家族包含 7 个成员 (*OfHSP20_2*、*OfHSP20_11*、*OfHSP20_12*、*OfHSP20_21*、*OfHSP20_23*、*OfHSP20_24* 和 *OfHSP20_33*)，无 CVII 和 CIV 类 OfHSP20 蛋白。M 类包含 2 个亚家族，其中 MI 亚家族包含 3 个成员 (*OfHSP20_5*、*OfHSP20_30* 和 *OfHSP20_32*)，MII 亚家族包含 2 个成员 (*OfHSP20_10* 和 *OfHSP20_31*)。ER 类包含 1 个成员 (*OfHSP20_22*)。P 类包含 3 个成员 (*OfHSP20_18*、*OfHSP20_29 和 OfHSP20_37*)。PO 类包含 1 个成员 (*OfHSP20_28*)。总体而言，C 类成员占比最高，表明细胞质/细胞核定位的 HSP20 蛋白可能在 *OfHSP20* 家族中发挥更重要的功能作用。

表 3 OfHSP20 蛋白二级结构

Table 3 Secondary structure of OfHSP20 protein

蛋白名称	α-螺旋/%	延伸链/%	无规则卷曲/%	蛋白名称	α-螺旋/%	延伸链/%	无规则卷曲/%
OfHSP20_1	16.06	24.09	59.85	OfHSP20_20	23.88	23.13	52.99
OfHSP20_2	25.79	16.84	57.37	OfHSP20_21	24.29	9.52	66.19
OfHSP20_3	28.03	20.38	51.59	OfHSP20_22	30.21	16.15	53.65
OfHSP20_4	27.56	22.44	50.00	OfHSP20_23	22.30	8.45	69.26
OfHSP20_5	25.00	15.82	59.18	OfHSP20_24	42.47	8.56	48.97
OfHSP20_6	24.38	19.38	56.25	OfHSP20_25	21.38	19.50	59.12
OfHSP20_7	25.70	18.99	55.31	OfHSP20_26	18.97	18.97	62.07
OfHSP20_8	27.39	19.75	52.87	OfHSP20_27	19.11	21.66	59.24
OfHSP20_9	26.11	20.38	53.50	OfHSP20_28	21.74	22.36	55.90
OfHSP20_10	21.90	18.57	59.52	OfHSP20_29	17.86	16.52	65.62
OfHSP20_11	18.78	12.68	68.54	OfHSP20_30	27.72	15.84	56.44
OfHSP20_12	26.47	10.50	63.03	OfHSP20_31	24.67	13.22	62.11
OfHSP20_13	29.30	21.02	49.68	OfHSP20_32	25.46	14.81	59.72
OfHSP20_14	15.09	21.38	63.52	OfHSP20_33	23.89	6.11	70.00
OfHSP20_15	22.56	18.90	58.54	OfHSP20_34	18.83	19.48	61.69
OfHSP20_16	20.90	21.64	57.46	OfHSP20_35	26.11	19.75	54.14
OfHSP20_17	22.06	20.59	57.35	OfHSP20_36	26.11	20.38	53.50
OfHSP20_18	17.73	13.18	69.09	OfHSP20_37	17.32	13.42	69.26
OfHSP20_19	21.99	19.37	58.64				

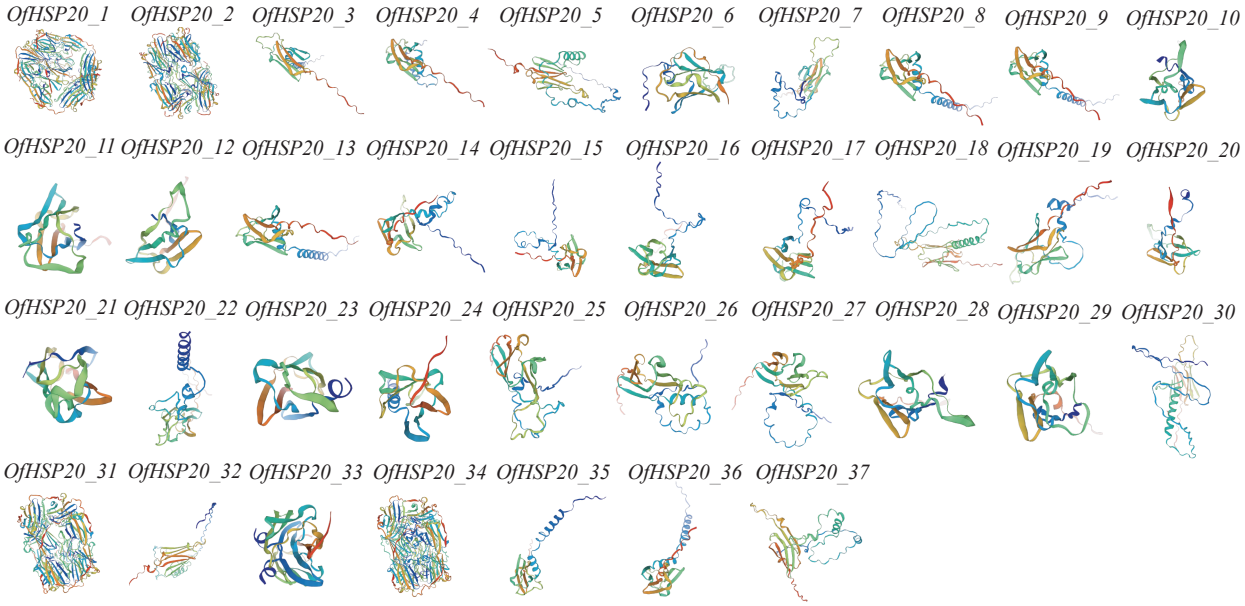


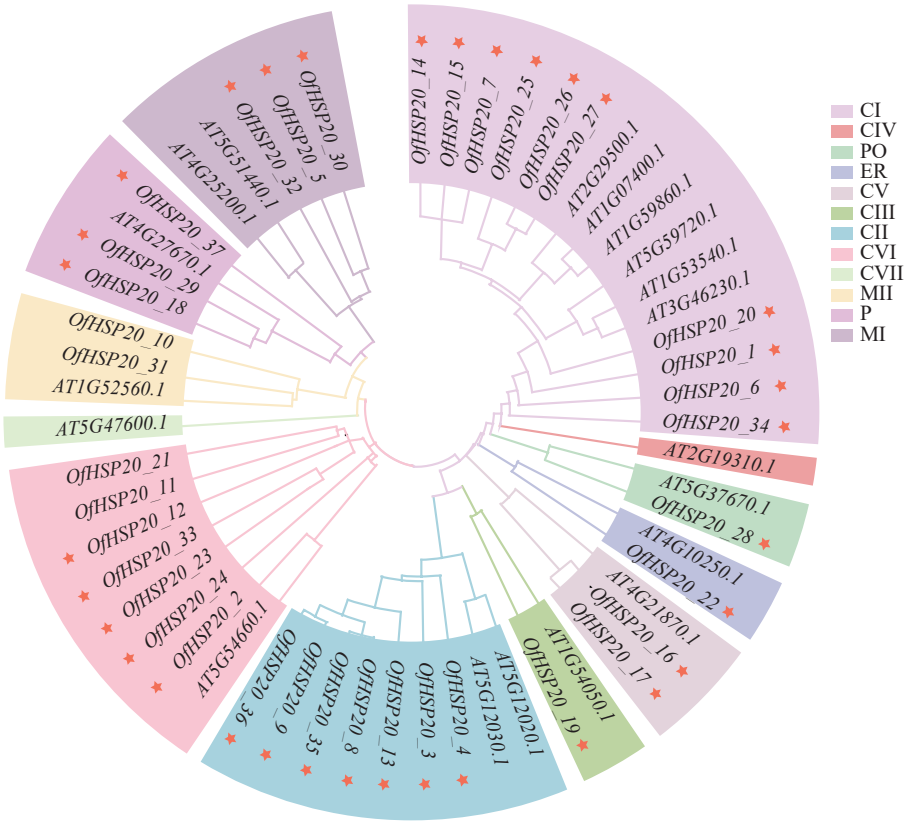
图 1 *OfHSP20* 基因家族蛋白三级结构

Figure 1 Tertiary structure of *OfHSP20* family proteins

2.3 *OfHSP20* 的基因结构及蛋白质基序分析

共鉴定出 8 类保守结构域及 20 个保守基序 (图 3)。同一亚家族成员的结构域和基序组成高度相似，大多数 *OfHSP20* 基因都含有 *HSP20* 家族特征性的 ACD 和 HSP20 相关结构域 (图 3A，B)。Motif 2 为多数成员共有。此外，CII 亚家族中除 *OfHSP20_4* 外均含 Motif 1~4、Motif 6 和 Motif 7，进一步支持同一亚家族成员结构保守性。

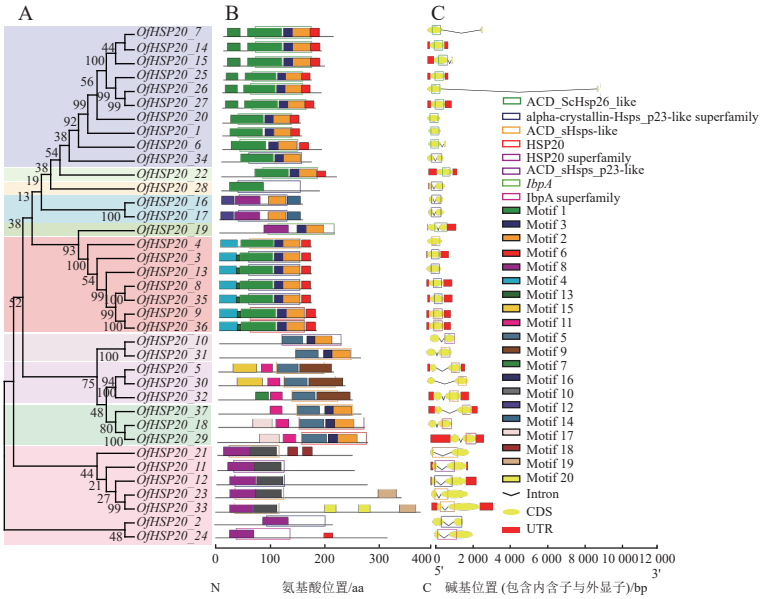
基因结构分析显示：*OfHSP20* 基因的外显子-内含子模式较为保守。其中，13 个基因 (*OfHSP20_1*、*OfHSP20_3*、*OfHSP20_4*、*OfHSP20_8*、*OfHSP20_9*、*OfHSP20_13*、*OfHSP20_14*、*OfHSP20_20*、*OfHSP20_22*、



五角星(★)标记为桂花的*HSP20*基因。CI~CVII. 细胞核/细胞质；MI~MII. 线粒体；ER. 内质网；P. 叶绿体；PO. 过氧化物酶。

图 2　*OfHSP20* 基因家族系统进化树

Figure 2　Phylogenetic tree of the *OfHSP20* gene family



A. *OfHSP20*基因家族进化树，左侧的折线是进化距离标尺，数字代表氨基酸替换率；B. 蛋白质基序；C. 基因结构。

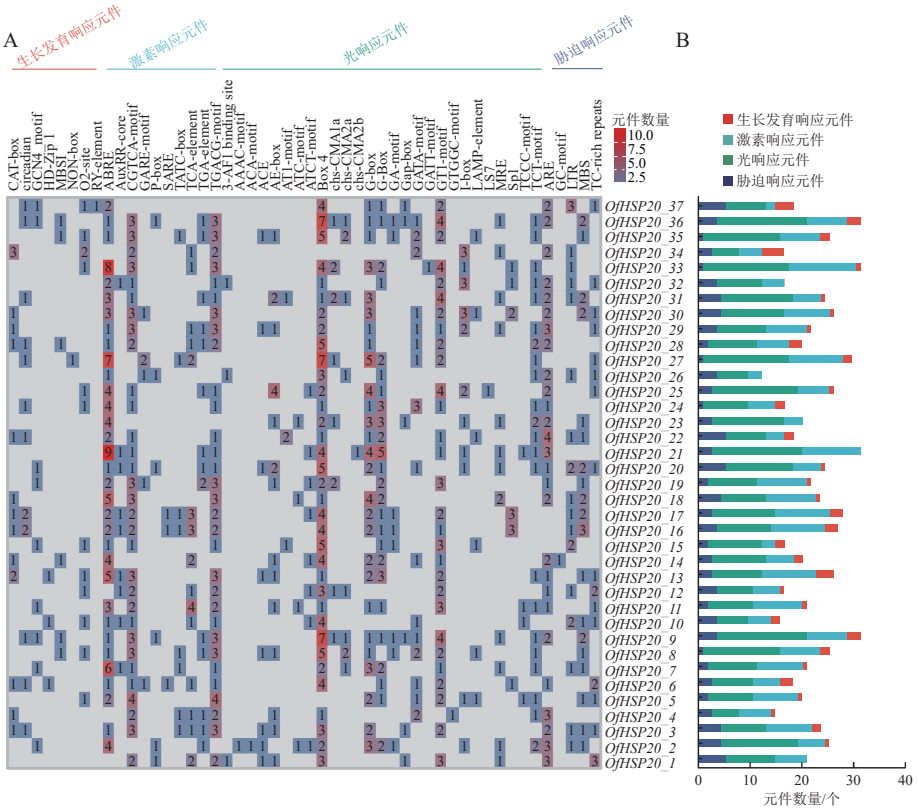
图 3　*OfHSP20* 基因结构、蛋白质基序和启动子分析

Figure 3　Analysis of gene structure, protein motifs, and promoters of the O*fHSP20* gene family

OfHSP20_25、*OfHSP20_27*、*OfHSP20_35* 和 *OfHSP20_36*) 仅包含 1 个内含子，其余成员主要由 1 个外显子和 2 个内含子组成 (图 3C)。此外，MI 亚家族的 3 个成员基因结构特征高度一致，均包含 2 个内含子 (图 3A，C)，进一步表明同一进化分支成员具有较高的结构保守性。

2.4　启动子的顺式作用元件分析

顺式作用元件预测显示：*OfHSP20* 基因启动子包含生长发育、激素、光和胁迫响应元件 (图 4A)。



A. 启动子顺式作用元件，数字表示对应顺式作用元件在该基因起始密码子 (ATG)上游2 000 bp启动子区域内的出现次数；B. 顺式作用元件数量。

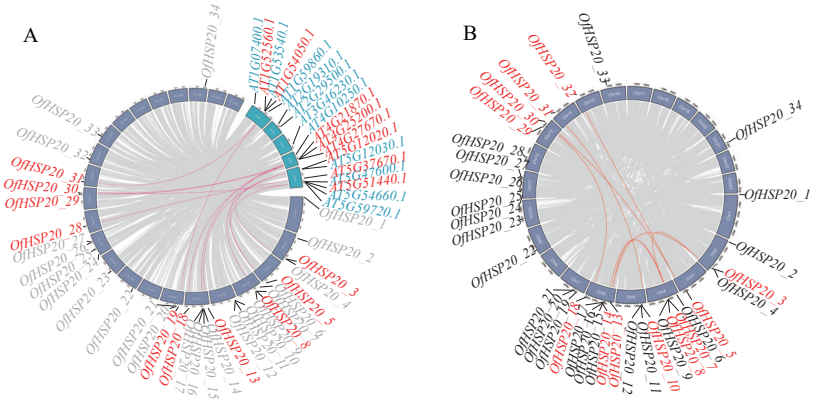
图 4 *OfHSP20* 基因的顺式作用元件

Figure 4 *Cis*-acting elements of the *OfHSP20* genes

生长发育元件主要包括 CAT-box (分生组织表达相关)、circadian (昼夜节律调控相关)、MBSI 和 HD-Zip 1 元件 (分生组织和发育调控相关)。激素响应元件包括 ABRE (ABA 响应)、AuxRR-core 和 TGA-element (生长素响应) 元件等。光响应元件包括 GA-motif、GAP-box 和 GT1-motif 等。胁迫响应元件包括无氧响应元件 ARE、干旱响应元件 MBS、参与病原体防御与胁迫响应的 TC-rich repeats 元件等。这些结果表明： *OfHSP20* 基因家族可能在多种环境胁迫响应、激素信号调控及生长发育中发挥重要作用。

2.5 共线性分析

为进一步解析 *OfHSP20* 基因家族的扩张机制及进化关系，对桂花与拟南芥 *HSP20* 基因家族进行共线性分析。结果显示：在拟南芥与桂花中共鉴定出 13 对共线染色体区域 (图 5A)。进一步对桂花基因组



A. 组间共线性；B. 组内共线性。图中不同颜色的基因符号对应不同编号的染色体，灰色表示桂花，绿色表示拟南芥，红色表示共线性基因，用于展示*OfHSP20*基因在染色体上的分布位置；灰色连线代表全基因组范围内的共线性片段；红色连线代表*HSP20*基因对的共线性关系 (片段复制基因对)。

图 5 *OfHSP20* 基因家族成员共线性分析

Figure 5 Collinearity analysis of the *OfHSP20* gene family

内共线性分析发现，*OfHSP20* 家族中存在 8 对片段复制基因对 (图 5B)。所有重复的 *HSP20* 基因对的 K_a/K_s 值均低于 1(表 4)，表明 *HSP20* 家族基因主要在纯化选择作用下进化。

表 4　种内及种间 *HSP20* 基因对的 K_a/K_s 分析

Table 4　K_a/K_s analysis of intra- and inter-species *HSP20* gene pairs

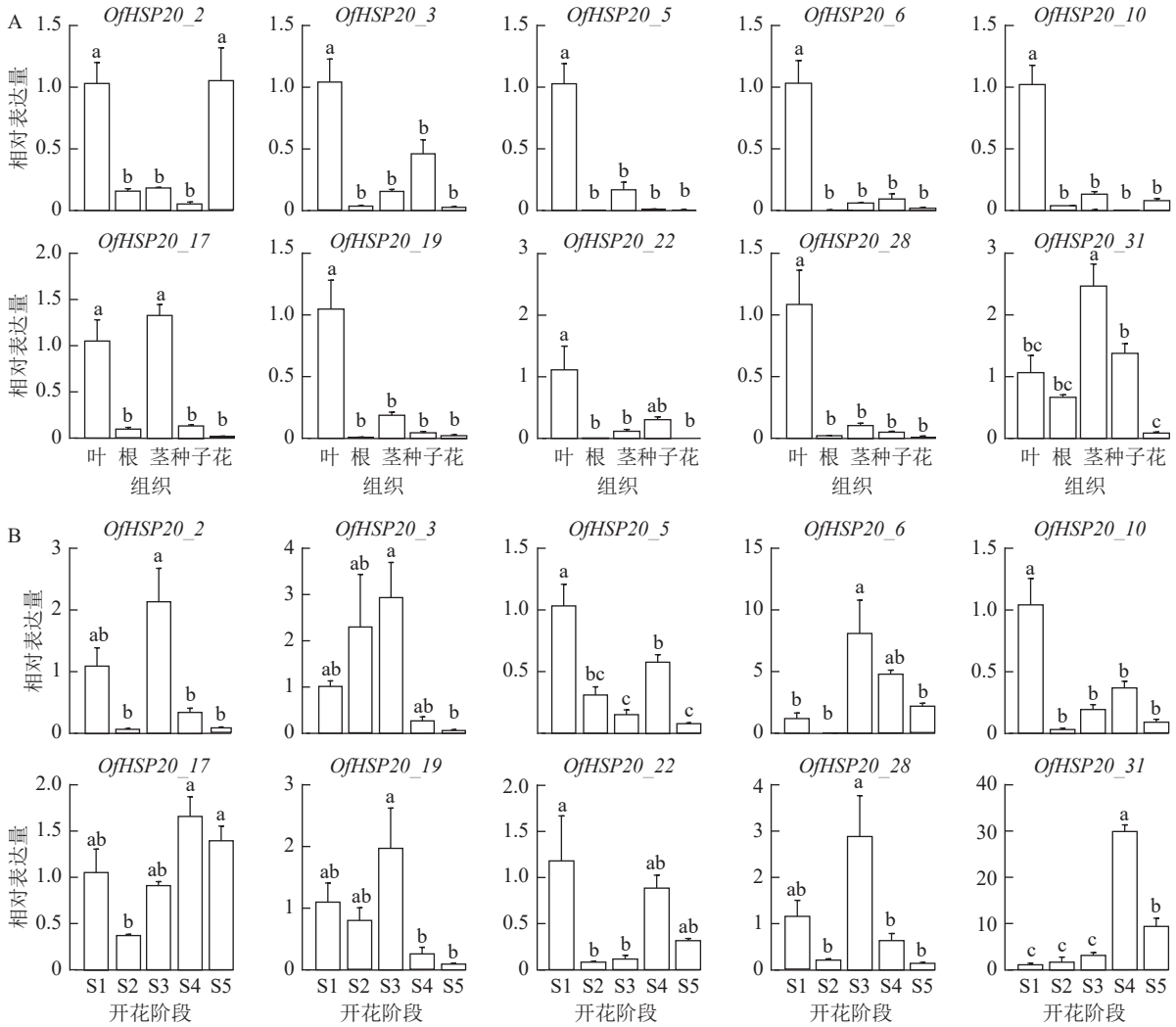
基因对	非同义替换率(K_a)	同义替换率(K_s)	替换率比值(K_a/K_s)
AT1G52560-OfHSP20_31	0.406 504	3.237 120	0.125 576
AT1G54050-OfHSP20_19	0.315 793	3.482 740	0.090 674
AT4G21870-OfHSP20_16	0.336 756	3.192 180	0.105 494
AT4G25200-OfHSP20_5	0.275 912	3.434 980	0.080 324
AT4G25200-OfHSP20_30	0.370 808	3.059 760	0.121 188
AT4G27670-OfHSP20_18	0.310 657	3.078 420	0.100 914
AT4G27670-OfHSP20_29	0.266 723	3.258 690	0.081 850
AT5G12020-OfHSP20_3	0.219 908	3.483 760	0.063 124
AT5G12020-OfHSP20_8	0.244 749	2.690 120	0.090 981
AT5G12020-OfHSP20_13	0.269 531	1.773 520	0.151 975
AT5G37670-OfHSP20_28	0.322 295	3.230 250	0.099 774
AT5G51440-OfHSP20_5	0.300 938	3.534 500	0.085 143
AT5G51440-OfHSP20_30	0.370 500	3.137 820	0.118 075
OfHSP20_3-OfHSP20_8	0.146 726	0.991 427	0.147 995
OfHSP20_3-OfHSP20_13	0.148 116	0.984 291	0.150 480
OfHSP20_7-OfHSP20_14	0.043 684	0.507 845	0.086 019
OfHSP20_8-OfHSP20_13	0.064 950	0.308 730	0.210 377
OfHSP20_29-OfHSP20_18	0.254 910	1.603 640	0.158 957
OfHSP20_30-OfHSP20_5	0.183 005	1.577 740	0.115 992
OfHSP20_31-OfHSP20_10	0.399 349	2.017 560	0.197 936
OfHSP20_32-OfHSP20_5	0.305 560	3.146 840	0.097 101

2.6　*HSP20* 基因家族成员表达分析

2.6.1　不同组织及不同开花阶段 *OfHSP20* 表达分析　采用 RT-qPCR 检测 10 个代表性 *OfHSP20* 基因在不同组织中的表达模式 (图 6A)。结果表明：所有 *OfHSP20* 基因均在至少 1 种组织中表达，且不同成员表现出明显的组织表达偏好。其中，*OfHSP20_3*、*OfHSP20_5*、*OfHSP20_6*、*OfHSP20_10*、*OfHSP20_19* 和 *OfHSP20_28* 在叶片中的表达量显著 ($P<0.05$) 高于其他组织，而 *OfHSP20_31* 在茎中的表达量显著 ($P<0.05$) 高于其他组织。

不同开花阶段花瓣中的表达动态变化如图 6B 所示。除 *OfHSP20_6* 外，其余 *OfHSP20* 基因在不同开花阶段均有表达。其中，*OfHSP20_2*、*OfHSP20_3*、*OfHSP20_19* 和 *OfHSP20_28* 表达在 S4 时期达到峰值，而在 S5 时期最低，差异显著 ($P<0.05$)。这些结果表明，部分 *OfHSP20* 基因可能参与花瓣开放及后期衰老过程的调控。

2.6.2　非生物胁迫处理下 *OfHSP20* 表达分析　*OfHSP20* 基因在非生物胁迫下表现出明显的时间依赖性表达响应。低温与干旱胁迫下，*OfHSP20_6* 与 *OfHSP20_28* 显著 ($P<0.05$) 诱导表达，但响应峰值时间不同 (图 7A~B)。高温胁迫下，*OfHSP20_10*、*OfHSP20_22* 和 *OfHSP20_31* 响应迅速，其转录水平在处理 3 h 时达峰值，分别为对照 (0 h) 的 6.34~22.87 倍 (图 7C)。盐胁迫下，*OfHSP20_3*、*OfHSP20_5*、*OfHSP20_19* 和 *OfHSP20_28* 的表达水平在 72 h 达峰值，分别为对照的 333.19、83.16、55.11、7.11 倍；*OfHSP20_6* 表达在 3 h 达峰值，为对照的 16.66 倍 (图 7D)。*OfHSP20* 在不同非生物胁迫下表现出差异化的诱导模式，部分成员能够在特定胁迫下快速或持续响应，提示其可能参与桂花逆境适应过程中的多层次调控。



A. 不同组织；B. 不同开花阶段。不同小写字母代表不同组织或开花阶段间差异显著 ($P<0.05$)。S1. 铃梗期；S2. 香眼期；S3. 初花期；S4. 盛花期；S5. 末花期。

图 6 不同组织和不同开花阶段 10 个 *OfHSP20* 基因的表达

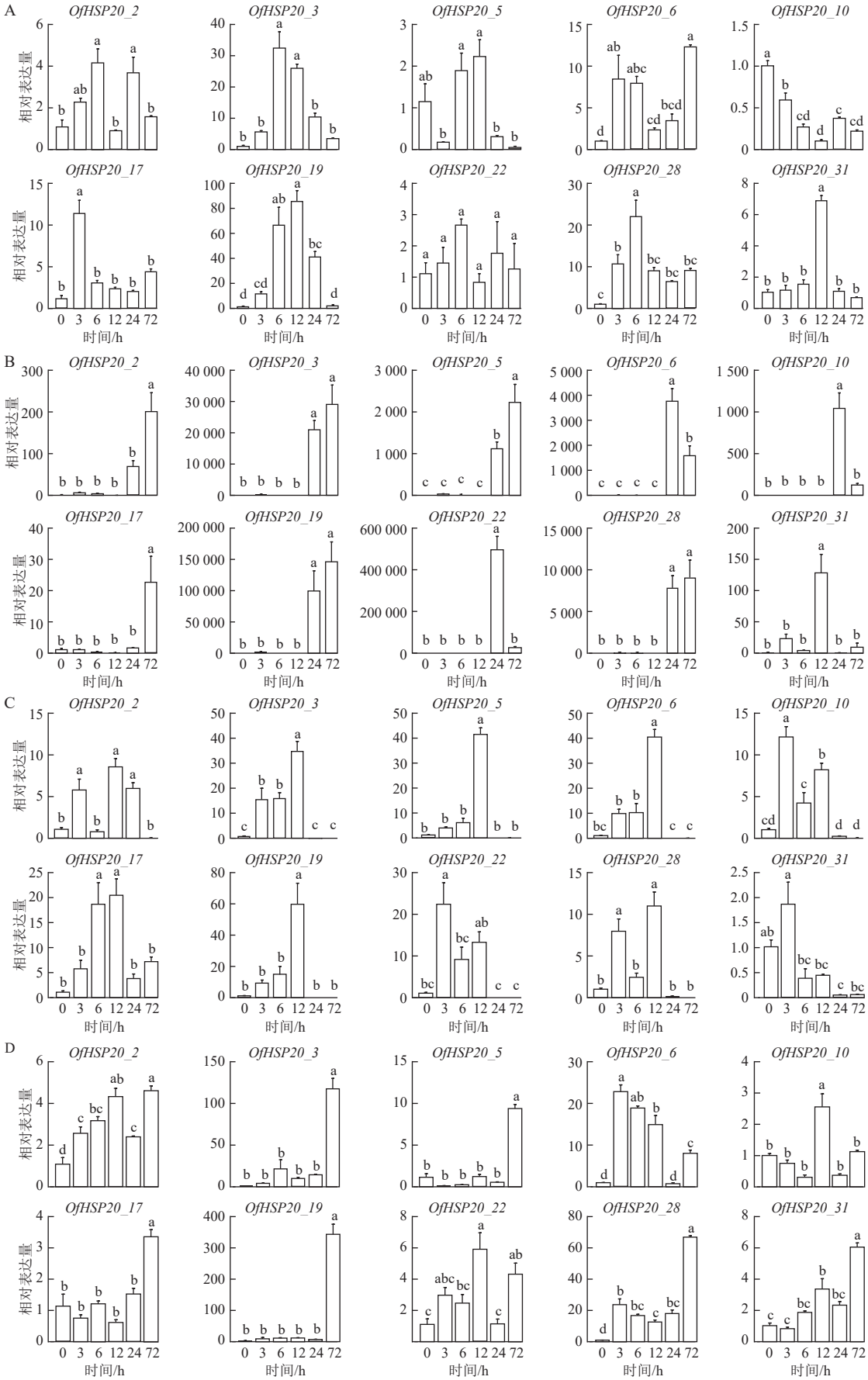
Figure 6 Expression of 10 *OfHSP20* genes in *O. fragrans*

3 讨论

HSP20 基因家族广泛存在于陆生植物中，家族规模存在明显物种差异。本研究鉴定出 37 个 *OfHSP20* 基因，家族规模介于月季 *Rosa chinensis* (31 个)、桃 *Prunus persica* (44 个)、苹果 (49 个) 等植物之间[10−11, 16]。这种物种间的数量差异反映了基因家族在长期进化中对物种生存环境的适应性。

OfHSP20 蛋白的分子量为 15.258~39.932 kDa，符合植物小分子热激蛋白 15.000~42.000 kDa 的典型特征[17]。所有蛋白均呈亲水性，该特征有利于 HSP20 蛋白在细胞水相环境中保持稳定并发挥分子伴侣功能，是其参与逆境响应的重要结构基础[18]。亚细胞定位预测显示：该家族蛋白以细胞质定位为主。细胞质定位的 *OfHSP20* 成员可能作为主要的分子伴侣，通过捕获和稳定胁迫诱导产生的错误折叠蛋白，促进蛋白复性或降解，从而维持细胞正常代谢活动[19]。

基因结构与保守基序特征是解析基因的表达调控与潜在功能的重要依据[20]。大多数 *OfHSP20* 基因包含 1~2 个外显子，这与生菜 *Lactuca sativa* var. *ramosa*[21] 和黄瓜 *Cucumis sativus*[22] 等植物的研究结果一致。简单的基因结构通常有利于减少转录过程中的调控复杂性，并可能促进胁迫条件下基因的快速转录响应[23]，这与 *OfHSP20_10*、*OfHSP20_22* 和 *OfHSP20_31* 的相对表达量在高温处理 3 h 达到峰值的特征相吻合。同一亚家族成员的基序高度保守，进一步支持了其进化来源和潜在功能相似性。例如 CII 亚家族中除 *OfHSP20_4* 外均包含 Motif 1~4、Motif 6 与 Motif 7，表明这些成员在蛋白结构组成方面具有较高一致性。结构保守性较高的部分 *OfHSP20* 成员表现出明显的逆境响应特征。例如 *OfHSP20_3* 在干旱胁



A. 低温胁迫；B. 干旱胁迫；C. 高温胁迫；D. 盐胁迫。不同小写字母代表不同时间间差异显著 ($P<0.05$)。

图 7　10 个 *OfHSP20* 基因在 4 种非生物胁迫下的表达分析

Figure 7　Expression profiles of 10 *OfHSP20* genes under four abiotic stresses in *O. fragrans*.

迫和盐胁迫下显著诱导表达，提示其可能通过维持蛋白质稳态参与桂花对非生物胁迫的适应过程。上述结果表明：*OfHSP20* 基因家族中保守的结构特征与特异性的胁迫响应模式共同构成了其功能多样性的分子基础。

系统进化与共线性分析表明，*OfHSP20* 家族与拟南芥 *HSP20* 进化关系保守。这表明 *HSP20* 家族的结构特征和基本功能在陆生植物长期进化过程中具有较高保守性。片段复制事件是 *OfHSP20* 基因家族扩张的主要驱动力，这与苹果[11] 和桃[10] 中 *HSP20* 家族的扩张模式一致。片段复制可增加基因家族成员数量，为基因功能分化、新功能获得以及表达模式多样化提供遗传基础[24]。K_a/K_s 分析显示：该基因家族成员主要受纯化选择作用。长期进化过程中，重复基因通常受到选择压力约束，以维持蛋白结构和核心功能的稳定性[9]。两者共同作用使 *OfHSP20* 家族在保持功能保守性的同时形成一定程度的功能分化，从而增强其对复杂环境条件的适应潜力。

启动子顺式作用元件是基因转录调控的核心基础[25]。本研究发现： *OfHSP20* 基因启动子区域富含生长发育、激素响应及逆境应答相关的顺式作用元件。其中，无氧响应元件 (ARE) 分布最广，可介导植物低氧条件下的转录调控[26]。高温、干旱等逆境通常伴随着细胞氧化还原稳态失衡和活性氧 (ROS) 积累[27]，因此氧化信号通过无氧响应元件快速启动基因表达，这与 *OfHSP20_10*、*OfHSP20_22* 和 *OfHSP20_31* 相对表达量在高温处理 3 h 快速到达峰值的特征高度吻合。此外，*OfHSP20_3* 和 *OfHSP20_5* 的启动子同时富集脱落酸响应元件 ABRE、干旱响应元件 MBS 与胁迫防御元件 TC-rich repeats，使其可通过 ABA 信号通路整合多种胁迫信号，介导广谱抗逆响应。这一调控机制在水稻 *Oryza sativa*[28] 等物种中高度保守，表明 *HSP20* 家族逆境调控通路的进化保守性。

OfHSP20 基因在不同组织中表现出明显的差异表达模式，这与苹果[29] *HSP20* 家族的组织特异性表达结果一致，暗示不同成员可能具有组织特异性功能。在不同开花阶段，*OfHSP20_2*、*OfHSP20_3*、*OfHSP20_19* 和 *OfHSP20_28* 在盛花期 (S4) 相对表达量达峰值，推测其参与桂花花瓣开放的相关调控过程。其次，在非生物胁迫响应中，*OfHSP20* 家族成员表现出明显的胁迫特异性和时间依赖性表达模式，其中，*OfHSP20_10*、*OfHSP20_22* 和 *OfHSP20_31* 相对表达量在高温胁迫 3 h 快速达峰值，随后呈动态双峰响应模式。类似的表达模式也在拟南芥 *HSP20* 家族中被报道[30]，表明 *HSP20* 基因可能通过精细调控表达动态参与植物对热胁迫的适应过程。其中 *OfHSP20_3*、*OfHSP20_5* 和 *OfHSP20_19* 这 3 个基因在 4 种非生物胁迫下均显著上调，表明这些基因可能属于桂花 *HSP20* 家族中的广谱胁迫响应成员。类似的多胁迫响应特征也在黄瓜 *HSP20* 家族中被观察到[22]，表明 *HSP20* 家族功能的进化保守性。然而，目前研究仅从表达水平揭示 *OfHSP20* 基因与非生物胁迫响应之间的相关性，其具体功能及调控机制仍需通过基因克隆、遗传转化、过表达或敲除验证以及相关表型分析进一步解析。未来可重点关注 *OfHSP20_3*、*OfHSP20_5* 和 *OfHSP20_19* 等响应多种胁迫的候选基因，深入解析其在桂花逆境耐受形成过程中的分子作用机制，为桂花抗逆分子育种提供理论依据和候选基因资源。

4 结论

本研究共鉴定 37 个 *OfHSP20* 基因。结构和进化分析表明，OfHSP20 蛋白均具有保守的 α-晶体结构域，片段复制是驱动该家族扩张的主要进化机制。启动子顺式作用元件分析显示，该家族基因可能受激素和胁迫信号的协同调控。表达分析表明，*OfHSP20* 家族成员在不同组织、不同开花阶段及非生物胁迫下表现出明显的表达特异性，其中 *OfHSP20_3*、*OfHSP20_5* 和 *OfHSP20_19* 为广谱胁迫响应基因，在高温、低温、干旱和盐胁迫下均显著上调，是桂花响应多重胁迫的关键候选基因。本研究为揭示 *HSP20* 基因在桂花逆境适应中的功能机制和抗逆分子育种提供了潜在基因资源。

5 参考文献

[1] 贺贝, 蔡璇, 曾祥玲, 等. ‘潢川金桂’花瓣衰老过程中细胞程序性死亡的生理机制[J]. 浙江农林大学学报, 2023, **40**(3): 475−480. HE Bei, CAI Xuan, ZENG Xiangling, *et al*. Programmed cell death events during the petal senescence of *Osmanthus fragrans* ‘Huangchuan Jingui’[J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2023, **40**(3): 475−480. DOI: 10.11833/j.issn.2095-0756.20220782.

[2] LAN Yangang, ZHANG Kaimei, WANG Linna, *et al*. The R2R3-MYB transcription factor OfMYB21 positively regulates linalool biosynthesis in *Osmanthus fragrans* flowers[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, **249**: 126099. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.126099.

[3] MENG Xin, WANG Fang, FU Chaohong, *et al*. Effect of *Osmanthus* hydrolat on the aroma quality and volatile components of *Osmanthus* black tea[J]. *Food Chemistry*: *X*, 2024, **23**: 101564. DOI: 10.1016/j.fochx.2024.101564.

[4] XI Wan, JIANG Mengyu, ZHU Linlin, *et al*. OfWRKY33 binds to the promoter of key linalool synthase gene *OfTPS7*to stimulate linalool synthesis in *Osmanthus fragrans* flowers[J]. *Horticulture Research*, 2025, **12**(9): uhaf155. DOI: 10.1093/hr/uhaf155.

[5] 陈玉芬, 陈芝仲. 吸入性芳香疗法对手术及躯体疾病患者焦虑情绪作用的研究进展[J]. 中国当代医药, 2024, **31**(15): 184−188. CHEN Yufen, CHEN Zhizhong. Research progress on the effect of inhalation aromatherapy on anxiety in patients with surgery and physical diseases[J]. *China Modern Medicine*, 2024, **31**(15): 184−188.

[6] 武耀星, 张梅, 杨勇, 等. 气候变化对桂花分布的影响研究[J]. 西北林学院学报, 2022, **37**(4): 129−134. WU Yaoxing, ZHANG Mei, YANG Yong, *et al*. Effects of climate changes on the distribution of *Osmanthus fragrans*[J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2022, **37**(4): 129−134. DOI: 10.3969/j.issn.1001-7461.2022.04.17.

[7] YURINA N P. The role of heat shock proteins in plant protection from oxidative stress[J]. *Молекулярная биология*, 2023, **57**(6): 949−964. DOI: 10.31857/s0026898423060228.

[8] IYER K, CHAND K, MITRA A, *et al*. Diversity in heat shock protein families: functional implications in virus infection with a comprehensive insight of their role in the HIV-1 life cycle[J]. *Cell Stress and Chaperones*, 2021, **26**(5): 743−768. DOI: 10.1007/s12192-021-01223-3.

[9] WATERS E R. The evolution, function, structure, and expression of the plant sHSPs[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2013, **64**(2): 391−403. DOI: 10.1093/jxb/ers355.

[10] LIAN Xiaodong, WANG Qiuping, LI Tianhao, *et al*. Phylogenetic and transcriptional analyses of the *HSP20* gene family in peach revealed that *PpHSP20-32* is involved in plant height and heat tolerance[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, **23**(18): 10849. DOI: 10.3390/ijms231810849.

[11] YAO Fuwen, SONG Chunhui, WANG Hongtao, *et al*. Genome-wide characterization of the *HSP20* gene family identifies potential members involved in temperature stress response in apple[J]. *Frontiers in Genetics*, 2020, **11**: 609184. DOI: 10.3389/fgene.2020.609184.

[12] 王元松, 杨康民, 朱文江, 等. 桂花开花物候期的划分及其采收期的调查研究[J]. 园艺学报, 1986, **13**(4): 271−275. WANG Yuansong, YANG Kangmin, ZHU Wenjiang, *et al*. Observation on the blooming phenology and the time of harvesting of the flowering of *Osmanthus fragrans*[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 1986, **13**(4): 271−275.

[13] WANG Y, TANG H, DEBARRY J D, *et al*. MCScanX: a toolkit for detection and evolutionary analysis of gene synteny and collinearity[J]. *Nucleic Acids Research*, 2012, **40**(7): e49. DOI: 10.1093/nar/gkr1293.

[14] NEI M, GOJOBORI T. Simple methods for estimating the numbers of synonymous and nonsynonymous nucleotide substitutions[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 1986, **3**(5): 418−426. DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040410.

[15] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method[J]. *Methods*, 2001, **25**(4): 402−408. DOI: 10.1006/meth.2001.1262.

[16] 侯哲, 陈靓颖, 姜正之, 等. 月季 *HSP20* 基因家族鉴定及功能分析[J]. 浙江农业科学, 2025, **66**(12): 3026−3035. HOU Zhe, CHEN Liangying, JIANG Zhengzhi, *et al*. Identification and functional analysis of *HSP20* gene family in *Rosa chinensis*[J]. *Journal of Zhejiang Agricultural Sciences*, 2025, **66**(12): 3026−3035. DOI: 10.16178/j.issn.0528-9017.20240700.

[17] YU Jiahong, CHENG Yuan, FENG Kun, *et al*. Genome-wide identification and expression profiling of tomato *HSP20* gene family in response to biotic and abiotic stresses[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, **7**: 1215. DOI: 10.3389/fpls.2016.01215.

[18] YAN Hengyu, DU Mingzhe, DING Jieyao, *et al*. Pan-genome-wide investigation and co-expression network analysis of *HSP20* gene family in maize[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, **25**(21): 11550. DOI: 10.3390/ijms252111550.

[19] GUO Liuming, LI Jing, HE Jing, *et al*. A class I cytosolic *HSP20* of rice enhances heat and salt tolerance in different

organisms[J]. *Scientific Reports*, 2020, **10**: 1383. DOI: 10.1038/s41598-020-58395-8.

[20] HUANG Junjun, HAI Zhaoxin, WANG Ruoyi, *et al*. Genome-wide analysis of *HSP20* gene family and expression patterns under heat stress in cucumber (*Cucumis sativus* L.)[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, **13**: 968418. DOI: 10.3389/fpls.2022.968418.

[21] ZHANG Qinqin, DAI Bowen, FAN Mi, *et al*. Genome-wide profile analysis of the *HSP20* family in lettuce and identification of its response to drought stress[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2024, **15**: 1426719. DOI: 10.3389/fpls.2024.1426719.

[22] WANG Xi' ao, ZHENG Yujie, CHEN Birong, *et al*. Genome-wide identification of small heat shock protein (HSP20) homologs in three cucurbit species and the expression profiles of *CsHSP20s* under several abiotic stresses[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, **190**: 827−836. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2021.08.222.

[23] REN Xinying, VORST O, FIERS M W E J, *et al*. In plants, highly expressed genes are the least compact[J]. *Trends in Genetics*, 2006, **22**(10): 528−532. DOI: 10.1016/j.tig.2006.08.008.

[24] 沈洁宇, 苏天晗, 余大奇, 等. 基因重复驱动的演化: 基因组学时代的回顾与展望[J]. 遗传, 2025, **47**(2): 147−171. SHEN Jieyu, SU Tianhan, YU Daqi, *et al*. Evolution by gene duplication: in the era of genomics[J]. *Hereditas*, 2025, **47**(2): 147−171. DOI: 10.16288/j.yczz.24-215.

[25] MARAND A P, EVELAND A L, KAUFMANN K, *et al*. *cis*-regulatory elements in plant development, adaptation, and evolution[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2023, **74**: 111−137. DOI: 10.1146/annurev-arplant-070122-030236.

[26] QI Xiangyu, DI Zexin, LI Yuyan, *et al*. Genome-wide identification and expression profiling of heat shock protein 20 gene family in *Sorbus pohuashanensis* (Hance) Hedl under abiotic stress[J]. *Genes*, 2022, **13**(12): 2241. DOI: 10.3390/genes13122241.

[27] MITTLER R, ZANDALINAS S I, FICHMAN Y, *et al*. Reactive oxygen species signalling in plant stress responses[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2022, **23**(10): 663−679. DOI: 10.1038/s41580-022-00499-2.

[28] NYASULU M, ZHONG Qi, WANG Zhengjie, *et al*. Integrative transcriptomic and biochemical analysis reveals key *HSP20*/alpha-crystallin genes associated with heat tolerance in rice[J]. *Rice*, 2025, **18**(1): 71. DOI: 10.1186/s12284-025-00828-x.

[29] ZHANG Fujun, LI Zhaoyang, ZHANG Deen, *et al*. Identification of *HSP20* gene family in *Malus domestica* and functional characterization of *HSP20* class I gene *MdHSP18.2b*[J]. *Physiologia Plantarum*, 2024, **176**(2): e14288. DOI: 10.1111/ppl.14288.

[30] SWINDELL W R, HUEBNER M, WEBER A P. Transcriptional profiling of *Arabidopsis* heat shock proteins and transcription factors reveals extensive overlap between heat and non-heat stress response pathways[J]. *BMC Genomics*, 2007, **8**(1): 125. DOI: 10.1186/1471-2164-8-125.