

DOI:10.11686/cyxb2025161

http://cyxb.magtech.com.cn

周晓彤, 罗永忠, 齐建伟, 等. 新疆大叶苜蓿 *PYL-PP2C-SnRK2* 基因家族鉴定及对干旱胁迫的响应分析. 草业学报, 2026, 35(4): 169—196.

ZHOU Xiao-tong, LUO Yong-zhong, QI Jian-wei, et al. Genome-wide identification of *PYL-PP2C-SnRK2* gene family members in *Medicago sativa* 'Xinjiangdaye' and their transcript profiles under drought stress. Acta Prataculturae Sinica, 2026, 35(4): 169—196.

## 新疆大叶苜蓿 *PYL-PP2C-SnRK2* 基因家族鉴定 及对干旱胁迫的响应分析

周晓彤, 罗永忠\*, 齐建伟, 邱应德, 马超

(甘肃农业大学林学院, 甘肃 兰州 730070)

**摘要:** 全球气候变暖导致干旱加剧, 严重影响着牧草产业的可持续发展。*PYL-PP2C-SnRK2* 是 ABA 信号转导通路的核心模块, 在植物适应干旱胁迫的过程中发挥重要作用。本研究利用生物信息学和分子生物学的研究方法对新疆大叶苜蓿 *PYL-PP2C-SnRK2* 基因家族成员进行全基因组鉴定和干旱胁迫下的调控模式分析。结果表明: 新疆大叶苜蓿基因组共包含 40 个 *MsPYLs*、216 个 *MsPP2Cs* 和 36 个 *MsSnRK2s* 基因, 3 个基因家族成员分别分布在 22、21 和 24 条染色体上。系统进化分析将 *MsPYL-PP2C-SnRK2* 分为 3、13 和 3 个亚家族。*MsPYLs* 均包含 PYR-PYL-RCAR-like 结构域; 大多数 *MsPP2Cs* 都包含 PP2Cc 结构域; *MsSnRK2s* 均包含 STKc 结构域。在启动子区域发现了多个与胁迫反应和植物生长相关的顺式作用元件。在不同程度干旱胁迫下, *MsPYL-PP2C-SnRK2s* 基因家族成员的表达模式存在显著差异。加权基因共表达网络分析将干旱胁迫下新疆大叶苜蓿内源 ABA 含量与基因表达量相关联, 进一步筛选出核心调控基因。分子对接结果验证表明, *MsSnRK2-14.1/14.2/1.2* 和 *MsPP2C88.4* 可能在干旱逆境中起关键的正向调控作用。本研究为深入探究 *MsPYL-PP2C-SnRK2* 基因在干旱胁迫响应中的功能机制提供了重要理论依据, 为优良牧草抗旱性的遗传改良提供了优异的基因资源。

**关键词:** 干旱胁迫; *PYL-PP2C-SnRK2*; 脱落酸; 加权基因共表达网络分析; 新疆大叶苜蓿

## Genome-wide identification of *PYL-PP2C-SnRK2* gene family members in *Medicago sativa* 'Xinjiangdaye' and their transcript profiles under drought stress

ZHOU Xiao-tong, LUO Yong-zhong\*, QI Jian-wei, QIU Ying-de, MA Chao

College of Forestry, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China

**Abstract:** Global climate change has led to the intensification of drought, which has had a serious impact on the sustainability of the forage industry. Among the various physiological and molecular mechanisms that plants employ to adapt to drought, the *PYL-PP2C-SnRK2* module stands out because it constitutes the core components of the abscisic acid (ABA) signaling pathway, which plays an essential role in mediating plant adaptation to drought. In this study, genome-wide identification of *PYL-PP2C-SnRK2* gene family members in *Medicago sativa* 'Xinjiangdaye' and analysis of their regulatory patterns under drought stress were conducted using bioinformatics and molecular biological methods. Searches of the *M. sativa* 'Xinjiangdaye' genome revealed 40 *MsPYL*, 216 *MsPP2C*, and 36 *MsSnRK2* genes. The members of these three gene families were distributed across different

收稿日期: 2025-04-29; 改回日期: 2025-07-03

基金项目: 国家自然科学基金(32160409)资助。

作者简介: 周晓彤(2002—), 女, 甘肃临洮人, 在读硕士。E-mail: 365801124@qq.com

\* 通信作者 Corresponding author. E-mail: 493517987@qq.com

chromosomes: *MsPYLs* across 22 chromosomes; *MsPP2Cs* across 21 chromosomes; and *MsSnRK2s* across 24 chromosomes. Domain architecture analysis of the putative proteins encoded by these genes confirmed the presence of the PYR-PYL-RCAR-like structural domain in all of the *MsPYLs*; the PP2Cc structural domain in most of the *MsPP2Cs*; and the STKc structural domain in all the *MsSnRK2s*. Analyses of gene promoter regions identified multiple stress-responsive and growth-related *cis*-regulatory elements. Under progressive drought stress, the *MsPYL-PP2C-SnRK2* genes exhibited significantly divergent transcript profiles. A weighted gene co-expression network analysis established robust correlations between endogenous ABA accumulation and the transcript levels of specific genes, which allowed us to identify candidate core regulatory factors involved in the drought adaptation process. Molecular docking analyses demonstrated that *MsSnRK2-14.1/14.2/1.2* and *MsPP2C88.4* had functional predominance as key positive regulators during the drought adaptation of *M. sativa* ‘Xinjiangdaye’. The results of this study provide a foundational theoretical framework for further studies on the functional mechanisms of the *MsPYL-PP2C-SnRK2* module and its components in the response to drought stress. Furthermore, it offers an excellent set of genetic resources for breeding new varieties of drought-resistant pasture grasses.

**Key words:** drought stress; *PYL-PP2C-SnRK2*; abscisic acid; weighted gene co-expression network analysis; *Medicago sativa* ‘Xinjiangdaye’

全球气候变暖导致干旱加剧,干旱是影响植物生长发育的主要非生物胁迫之一<sup>[1-2]</sup>。在自然状态下,植物组织含水量占组织鲜重的75%~90%,是植物生长、发育、代谢等多种生理过程的重要参与者,水分的亏缺会严重影响植物的生长发育和形态建成<sup>[3]</sup>。经过长期的自然进化与选择,植物进化出了干旱信号感知—信号转导—下游功能基因响应的多层次干旱适应策略<sup>[4]</sup>。脱落酸(abscisic acid, ABA)是植物激素中的核心成员<sup>[5]</sup>,在非生物胁迫信号转导过程中起重要的信号传递作用<sup>[6]</sup>。干旱胁迫会激发植物器官中ABA产生和积累,然后通过磷酸化依赖的信号级联介导胁迫反应<sup>[7-8]</sup>。大量研究表明ABA依赖的信号通路在渗透胁迫引起的ABA信号转导中是必不可少的,并且在介导植物干旱反应中起中心调节作用<sup>[9-10]</sup>。

ABA信号通路包括3个主要组分,即ABA受体家族蛋白(pyrabatin resistance/pyrabactin resistance 1-like/regular component of ABA receptors, PYR/PYL/RCAR, PYL)、蛋白磷酸酶2C(protein phosphatase 2C, PP2C)、蔗糖非酵解型蛋白激酶2(sucrose non-fermenting 1-related protein kinase 2, SnRK2)<sup>[9]</sup>。在缺乏ABA的情况下,PP2C结合并抑制SnRK2s,从而阻断ABA信号通路<sup>[10]</sup>。研究发现,PYL-PP2C-SnRK2组成的核心信号模块构成ABA信号转导的分子枢纽,其功能调控网络解析已成为植物逆境生物学研究的前沿领域<sup>[11]</sup>。在ABA存在下,ABA与PYL受体结合,诱导构象变化形成PYL-ABA-PP2C三元复合物,解除PP2C对SnRK2的抑制作用,导致自磷酸化和SnRK2的激活,活化的SnRK2通过磷酸化下游转录因子,启动胁迫响应基因的表达调控程序,以ABA依赖的方式修饰一系列基因的转录并刺激ABA反应<sup>[11-12]</sup>。因此,ABA信号通路的核心成分如何响应ABA信号对逆境下植物维持生长就至关重要。研究发现,拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)基因组包含14个PYL的基因,其中过表达*AtPYR1*、*AtPYL1*、*AtPYL2*和*AtPYL3*基因可以提高干旱胁迫的耐受性<sup>[13-14]</sup>。研究发现,在禾本科中PP2C家族成员在ABA信号转导中呈现功能异质性<sup>[15-18]</sup>。玉米(*Zea mays*)*ZmPP2C-A10*通过负向调控SnRK2活性参与渗透胁迫应答<sup>[15]</sup>,而小麦(*Triticum aestivum*)*TaPP2C1*则通过调控活性氧代谢增强耐旱性<sup>[16-17]</sup>。

新疆大叶苜蓿(*Medicago sativa* ‘Xinjiangdaye’)是西北地区种植较为广泛的四倍体紫花苜蓿品种,具有较强的抗旱性<sup>[19]</sup>。但是由于我国西北地区水资源匮乏,干旱成为限制新疆大叶苜蓿产量和地理分布的主要因素之一<sup>[2]</sup>。因此,提高新疆大叶苜蓿的干旱适应性对西北畜牧业的发展具有重要意义。研究发现,干旱能诱导多个紫花苜蓿品种根叶中ABA含量的积累<sup>[20]</sup>,说明ABA介导的干旱胁迫信号转导是紫花苜蓿适应干旱胁迫的主要策略,但目前有关紫花苜蓿ABA信号转导的分子基础报道较少。因此,本研究结合基因组和转录组数据对新疆大

叶苜蓿 *PYL-PP2C-SnRK2* 基因家族成员进行系统鉴定和干旱胁迫下的响应模式分析,并结合加权基因共表达网络分析(weighted gene co-expression network analysis, WGCNA)筛选了 ABA 信号转导途径中的关键基因,为进一步揭示 ABA 信号通路在紫花苜蓿中的功能和抗旱分子机制研究提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

从 FigShare(<https://figshare.com/>)数据库下载新疆大叶苜蓿的基因组相关文件(包含基因组和其注释文件)。拟南芥全基因组数据下载自 TAIR(<https://www.arabidopsis.org/>)数据库<sup>[21]</sup>。干旱胁迫下的转录组数据来源于甘肃农业大学林学院罗永忠课题组 2023 年的抗旱性试验<sup>[22]</sup>。

### 1.2 基因家族的生物信息学分析

**1.2.1 基因家族的鉴定** 从 Pfam(<https://pfam.xfam.org/>)数据库下载 *PYL*、*PP2C* 和 *SnRK2* 蛋白质的结构域文件,其中 *PYL* 和 *SnRK2* 蛋白质的 Pfam 模型分别为 PF10604 和 PF00069,*PP2C* 的为 PF07714 和 PF00036。使用 HMMER 3.0 软件在蛋白质文件中搜索获得包含 *PYL-PP2C-SnRK2* 结构域、*PP2C* 结构域、*SnRK2* 结构域的序列,参数设置为 E-value < 1e-5。利用蛋白序列在 Interpro、SMART、NCBI 在线网站鉴定其包含的结构域,并去除冗余序列。拟南芥的 *PYL-PP2C-SnRK2s* 基因及蛋白序列来自拟南芥 TAIR 数据库。

**1.2.2 蛋白理化性质分析** 利用 ExPASy<sup>[23]</sup>(<https://web.expasy.org/protparam/>)网站对新疆大叶苜蓿 *MsPYL-PP2C-SnRK2* 家族的氨基酸长度、分子量、等电点、不稳定指数、平均疏水性进行预测。利用 WoLF PSORT<sup>[24]</sup>(<https://wolfsort.hgc.jp/>)网站对新疆大叶苜蓿 *MsPYL-PP2C-SnRK2* 家族进行亚细胞定位预测。

**1.2.3 染色体定位及共线性分析** 使用 TBtools<sup>[25]</sup>软件对其在染色体上的位置定位,在 MG2C 网站([http://mg2c.iask.in/mg2c\\_v2.1/](http://mg2c.iask.in/mg2c_v2.1/))进行结果可视化。利用 TBtools 软件分析 *PYL-PP2C-SnRK2s* 基因家族成员的共线性关系。

**1.2.4 系统进化树的构建与分析** 利用基于最大似然法的 Treefinder 软件构建拟南芥和新疆大叶苜蓿 *PYL-PP2C-SnRK2s* 基因家族的系统发育树。分别使用 Jones、Taylor 和 Thornton 氨基酸替换模型(JTT 模型)执行 1000 次重复的 bootstrap 值,其他参数默认。利用 iTOL<sup>[26]</sup>(<https://itol.embl.de/>)美化进化树。

**1.2.5 基因结构和保守基序、保守结构域分析** 从新疆大叶苜蓿基因组注释文件中获取 *MsPYL-PP2C-SnRK2* 基因的内含子和外显子信息,用于绘制基因结构图,运用在线网站 MEME(<https://meme-suite.org/meme/tools/meme>)分析 *PYL-PP2C-SnRK2* 基因家族成员保守基序。利用 TBtools 分析基因结构,对 *MsPYL-PP2C-SnRK2* 基因结构保守基序、保守结构域进行可视化。

**1.2.6 顺式作用元件预测** 利用在线网站 PlantCARE<sup>[27]</sup>(<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>)对启动子区域的顺式作用元件进行预测,预测结果由 TBtools 软件可视化。

**1.2.7 WGCNA 分析、GO 注释及 KEGG 富集** 利用基于 R version 4.2.2 的 WGCNA 1.71 函数包完成共表达模块分析,使用甘肃农业大学林学院罗永忠课题组前期检测的 ABA 含量作为表型数据进行模块相关性分析。使用 STRING<sup>[28]</sup>(<https://cn.string-db.org>)网站进行 GO 注释和 KEGG 富集。

**1.2.8 分子对接** 蛋白质三级结构构建使用 AlphaFold 3(<https://alphafoldserver.com/>)完成。ABA 结构文件下载自 Pubchem(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)网站,CID 号为 5280896。蛋白质与 ABA 对接使用 AutoDockTools-1.5.6 完成,蛋白质-蛋白质对接使用 HDock SERVER<sup>[29]</sup>(<http://hdock.phys.hust.edu.cn/>)完成。利用 PDBEPIA<sup>[30]</sup>([https://www.ebi.ac.uk/msd-srv/prot\\_int/cgi-bin/piserver](https://www.ebi.ac.uk/msd-srv/prot_int/cgi-bin/piserver))分析接触界面的作用力。使用 PyMOL 2.4 完成蛋白质结构和对接结果的可视化。

### 1.3 干旱胁迫下的转录组分析

**1.3.1 材料处理与转录组测序** 以甘肃农业大学草业学院提供的新疆大叶苜蓿种子为试验材料,室外自然条件下进行盆栽试验。每个花盆(上底直径 29.5 cm、下底直径 20.0 cm、高 23.0 cm)装 8.0 kg 过筛(筛孔为 0.5 cm)

壤土,在装土前,每盆增施 7.2 g 氮肥,按 1 g 尿素:5 g(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>的比例混合均匀,测得田间持水量为 18.25%。2023年3月16日播种,每盆播种 50 粒,出苗后定苗至 20 株,统一防治病虫害。试验共设 4 个不同的土壤水分梯度,CK 为对照(田间最大持水量的 85%±5%),D<sub>1</sub>为轻度胁迫(田间最大持水量的 65%±5%),D<sub>2</sub>为中度胁迫(田间最大持水量的 45%±5%),D<sub>3</sub>为重度胁迫(田间最大持水量的 20%±5%),用盆栽称重法控制土壤含水量。于 2023年6月21日开花初期开始控水,用感量 5.0 g 电子秤于每天 18:00 对各处理进行称重补水,架设塑料防雨棚,控制土壤水分含量范围。干旱胁迫第 14 天时 D<sub>2</sub>和 D<sub>3</sub>处理叶片出现明显萎蔫,此时对 CK、D<sub>1</sub>、D<sub>2</sub>、D<sub>3</sub>处理下植株的完整健康叶片进行采样。每个干旱梯度设置 3 次重复。取样后,立即将样品快速冷冻在液氮中,并在 -80 °C 保存以供后续进行转录组测序和 qRT-PCR 检测。

RNA 的提取和质量控制、文库的制备和定量、测序和质量控制分析均参考 Qi 等<sup>[22]</sup>的方法。使用 Hisat2 (2.2.1)<sup>[31]</sup>将 Clean reads 比对到新疆大叶苜蓿的参考基因组上,使用 featureCounts(2.0.3)<sup>[21]</sup>对基因比对情况进行计算,然后根据 reads 的覆盖度计算每个基因的 FPKM (fragments per kilobase million) 值。

**1.3.2 基因表达量和 qRT-PCR 分析** 从干旱胁迫下的新疆大叶苜蓿转录组中获取 *MsPYL-PP2C-SnRK2* 家族基因的表达量数据,以 log<sub>2</sub>(FPKM+1) 进行标准化处理<sup>[22]</sup>,使用 CNSknowall 平台 (<https://cnsknowall.com>) 绘制表达量热图。利用 SPSS 26 的单因素方差 (one-way ANOVA) 分析检测主要表达基因在干旱胁迫下的差异水平,并在 Origin 2021 中绘制差异性分析图。qRT-PCR 的样品收集方法与转录组的取样方法一致。使用 CTAB 方法<sup>[22]</sup>从叶中提取总 RNA,随后使用逆转录试剂盒 (SweScript All-in-One RT SuperMix, G3337) 逆转录成 cDNA。根据目的基因序列,qRT-PCR 引物(表 1)用 NCBI Primer-BLAST 设计。qRT-PCR 反应体系为 15 μL,反应程序为 95 °C 预变性 30 s,95 °C 变性 5 s,60 °C 退火延伸 20 s,然后 40 个循环,qRT-PCR 引物是针对表 1 中列出的靶基因单独设计,选取紫花苜蓿 *Actin* 基因 (MS.gene001874) 为内参,每组处理重复 3 次,利用 2<sup>-ΔΔCT</sup><sup>[32]</sup> 法进行相对表达量计算。

表 1 qRT-PCR 引物信息

Table 1 Primers used for qRT-PCR

基因 Gene	正向引物 Forward primer (5'-3')	反向引物 Reverse primer (5'-3')
<i>MsPP2C10.1</i>	GATGGCTTGTGGGGTGAATGT	GCAGCTTCAGCAGCAGCACTAC
<i>MsPP2C25</i>	TGAAACGCCTATCCTCAAAGCT	TGATTGCTCAAGTGCTCCATA
<i>MsPP2C66.3</i>	ATGTCTGATACTGCGAGTGATGG	TCGCCAATGCCAACTTCGT
<i>MsPP2C66.4</i>	TTACAAC TGGGCTGCAACGAG	TCACAAATGGCGTCCAGAATAG
<i>MsActin</i>	GCCAATGATGCTTAGCTGGTCTT	CCCTTCTTCACTCACGCGATAT

## 2 结果与分析

### 2.1 基因家族的鉴定和蛋白质理化性质分析

基因鉴定结果显示(表 2),新疆大叶苜蓿基因组中包含 40 个 *PYL* 基因、216 个 *PP2C* 基因和 36 个 *SnRK2* 基因家族成员,按染色体位置依次命名为 *MsPYL1*~*MsPYL13*、*MsPP2C1*~*MsPP2C111*、*MsSnRK2-1*~*MsSnRK2-15*。蛋白质理化性质分析显示,*MsPYLs*、*MsPP2Cs* 和 *MsSnRK2s* 蛋白质分别由 561~696、186~4110 和 822~3459 个氨基酸组成。*MsPYLs*、*MsPP2Cs* 和 *MsSnRK2s* 等电点 (isoelectric point, PI) 值均小于 7.0,属酸性蛋白。*MsPYLs* 和 *MsPP2Cs* 蛋白质疏水性指数 (grand average of hydropathicity, GRAVY) 均大于 0,均为疏水性蛋白,*MsSnRK2s* 蛋白质均为亲水性蛋白 (GRAVY < 0)。*MsPP2Cs* 和 *MsSnRK2s* 蛋白稳定指数 (instability index, II) 均小于 40,属稳定性蛋白,大部分 *MsPYLs* 蛋白稳定指数均大于 40,稳定性较差。亚细胞定位预测结果表明(图 1),*MsPYLs*、*MsPP2Cs* 和 *MsSnRK2s* 主要在细胞核中表达。

表 2 新疆大叶苜蓿 *PYL-PP2C-SnRK2* 基因家族成员信息Table 2 Information on members of the *PYL-PP2C-SnRK2* gene family in *M. sativa* 'Xinjiangdaye'

基因名 Gene name	登录号 Gene ID	氨基酸长度 Amino acids length (aa)	分子量 Molecular weight (Da)	等电点 Isoelectric point (PI)	疏水性指数 Grand average of hydropathicity	蛋白稳定指数 Instability index	
<i>MsPYL1</i>	<i>MsPYL1.1</i>	MS. gene31808. t1	561	45751.52	5.22	0.685	36.94
	<i>MsPYL1.2</i>	MS. gene046813. t1	561	45829.73	5.21	0.709	38.25
	<i>MsPYL1.3</i>	MS. gene32355. t1	561	45797.67	5.21	0.708	37.36
<i>MsPYL2</i>	<i>MsPYL2.1</i>	MS. gene32980. t1	570	46913.84	5.23	0.750	38.39
	<i>MsPYL2.2</i>	MS. gene24547. t1	570	46911.80	5.24	0.744	37.62
	<i>MsPYL2.3</i>	MS. gene051624. t1	570	46913.84	5.23	0.750	37.20
	<i>MsPYL2.4</i>	MS. gene57223. t1	570	46911.80	5.24	0.744	37.62
<i>MsPYL3</i>	<i>MsPYL3.1</i>	MS. gene67442. t1	696	58726.88	5.10	0.908	59.28
	<i>MsPYL3.2</i>	MS. gene040004. t1	696	58726.88	5.10	0.908	58.65
	<i>MsPYL3.3</i>	MS. gene008006. t1	696	58646.64	5.11	0.884	54.57
	<i>MsPYL3.4</i>	MS. gene031922. t1	696	58758.94	5.10	0.909	58.81
<i>MsPYL4</i>	<i>MsPYL4.1</i>	MS. gene93372. t1	657	56043.53	5.09	1.008	66.09
	<i>MsPYL4.2</i>	MS. gene33451. t1	657	56013.50	5.09	1.012	66.04
	<i>MsPYL4.3</i>	MS. gene33704. t1	657	55965.38	5.09	1.003	65.24
	<i>MsPYL4.4</i>	MS. gene052795. t1	657	55995.47	5.09	1.014	65.98
<i>MsPYL5</i>	<i>MsPYL5.1</i>	MS. gene51080. t1	618	51705.88	5.16	0.722	42.45
	<i>MsPYL5.2</i>	MS. gene76095. t1	618	51705.88	5.16	0.722	42.45
	<i>MsPYL5.3</i>	MS. gene29692. t1	618	51705.88	5.16	0.722	42.45
	<i>MsPYL5.4</i>	MS. gene94210. t1	618	51691.85	5.16	0.718	42.17
<i>MsPYL6</i>	<i>MsPYL6.1</i>	MS. gene84133. t1	600	48835.96	5.20	0.697	41.11
	<i>MsPYL6.2</i>	MS. gene013622. t1	600	48835.96	5.20	0.697	41.11
<i>MsPYL7</i>	<i>MsPYL7.1</i>	MS. gene99506. t1	561	48287.00	5.10	1.023	55.22
	<i>MsPYL7.2</i>	MS. gene069000. t1	561	48339.13	5.10	1.027	55.78
	<i>MsPYL7.3</i>	MS. gene071035. t1	561	48284.97	5.10	1.017	55.46
	<i>MsPYL7.4</i>	MS. gene95677. t1	561	48335.06	5.10	1.016	53.25
<i>MsPYL8</i>	<i>MsPYL8.1</i>	MS. gene95282. t1	573	46728.55	5.22	0.702	42.33
	<i>MsPYL8.2</i>	MS. gene86009. t1	573	46788.66	5.22	0.711	42.16
	<i>MsPYL8.3</i>	MS. gene59569. t1	573	46788.66	5.22	0.711	41.39
	<i>MsPYL8.4</i>	MS. gene79764. t1	573	46820.72	5.22	0.712	42.73
<i>MsPYL9</i>	<i>MsPYL9.1</i>	MS. gene057108. t1	600	48819.90	5.21	0.688	41.11
	<i>MsPYL9.2</i>	MS. gene057109. t1	600	48819.90	5.21	0.688	41.11
	<i>MsPYL9.3</i>	MS. gene057110. t1	600	48819.90	5.21	0.688	41.11
	<i>MsPYL9.4</i>	MS. gene06744. t1	600	48819.90	5.21	0.688	41.11
	<i>MsPYL9.5</i>	MS. gene06745. t1	600	48819.90	5.21	0.688	41.11
<i>MsPYL10</i>	<i>MsPYL10.1</i>	MS. gene036289. t1	660	55992.29	5.09	0.953	57.51
	<i>MsPYL10.2</i>	MS. gene036290. t1	660	55992.29	5.09	0.953	57.51
	<i>MsPYL10.3</i>	MS. gene054809. t1	660	55992.29	5.09	0.953	57.51
	<i>MsPYL10.4</i>	MS. gene069194. t1	646	54883.03	5.09	0.950	58.61
<i>MsPYL12</i>	<i>MsPYL12</i>	MS. gene027877. t1	660	56018.25	5.09	0.940	58.90
<i>MsPYL13</i>	<i>MsPYL13</i>	MS. gene054810. t1	660	55992.29	5.09	0.953	57.51
<i>MsPP2C1</i>	<i>MsPP2C1.1</i>	MS. gene000163. t1	2049	169425.48	4.98	0.622	28.16
	<i>MsPP2C1.2</i>	MS. gene073806. t1	2049	169503.63	4.98	0.624	28.11
	<i>MsPP2C1.3</i>	MS. gene029891. t1	2049	169435.44	4.98	0.620	28.21

续表 Continued Table

基因名 Gene name	登录号 Gene ID	氨基酸长度 Amino acids length (aa)	分子量 Molecular weight (Da)	等电点 Isoelectric point (PI)	疏水性指数 Grand average of hydropathicity	蛋白稳定指数 Instability index	
<i>MsPP2C2</i>	<i>MsPP2C2.1</i>	MS. gene005284. t1	1059	85931.27	5.12	0.646	30.09
	<i>MsPP2C2.2</i>	MS. gene40815. t1	1059	86017.61	5.12	0.671	30.41
<i>MsPP2C3</i>	<i>MsPP2C3.1</i>	MS. gene005288. t1	1272	103836.81	5.06	0.684	28.22
	<i>MsPP2C3.2</i>	MS. gene40810. t1	1272	103790.73	5.06	0.682	28.22
	<i>MsPP2C3.3</i>	MS. gene44166. t1	1272	103802.72	5.06	0.681	28.30
	<i>MsPP2C3.4</i>	MS. gene056092. t1	1272	103714.61	5.06	0.682	28.30
<i>MsPP2C4</i>	<i>MsPP2C4.1</i>	MS. gene005402. t1	2679	220374.02	4.92	0.651	28.44
	<i>MsPP2C4.2</i>	MS. gene066055. t1	2679	220374.02	4.92	0.651	28.44
	<i>MsPP2C4.3</i>	MS. gene20934. t1	2679	220374.02	4.92	0.651	28.44
<i>MsPP2C5</i>	<i>MsPP2C5.1</i>	MS. gene034500. t1	1164	96071.97	5.09	0.660	29.30
	<i>MsPP2C5.2</i>	MS. gene37275. t1	1164	96106.06	5.09	0.663	29.21
	<i>MsPP2C5.3</i>	MS. gene000109. t1	1164	96094.07	5.09	0.664	29.12
	<i>MsPP2C5.4</i>	MS. gene37080. t1	1164	96182.23	5.09	0.672	29.38
<i>MsPP2C6</i>	<i>MsPP2C6</i>	MS. gene037293. t1	693	56172.42	5.20	0.568	26.26
<i>MsPP2C7</i>	<i>MsPP2C7.1</i>	MS. gene037294. t1	1194	98376.49	5.08	0.648	28.31
	<i>MsPP2C7.2</i>	MS. gene065003. t1	1194	98370.51	5.08	0.657	28.81
	<i>MsPP2C7.3</i>	MS. gene056285. t1	1194	98402.57	5.08	0.657	28.73
	<i>MsPP2C7.4</i>	MS. gene029273. t1	1194	98390.52	5.08	0.650	28.39
<i>MsPP2C8</i>	<i>MsPP2C8.1</i>	MS. gene073639. t1	1668	137369.92	5.00	0.672	28.12
	<i>MsPP2C8.2</i>	MS. gene040678. t1	1668	137369.86	5.00	0.666	27.94
	<i>MsPP2C8.3</i>	MS. gene84042. t1	1668	137367.83	5.01	0.664	27.94
	<i>MsPP2C8.4</i>	MS. gene068137. t1	1668	137401.86	5.00	0.661	27.70
<i>MsPP2C9</i>	<i>MsPP2C9.1</i>	MS. gene24384. t1	1290	104380.54	5.08	0.635	28.84
	<i>MsPP2C9.2</i>	MS. gene044022. t1	1290	104352.49	5.08	0.632	28.68
	<i>MsPP2C9.3</i>	MS. gene67109. t1	1290	104346.45	5.08	0.632	28.91
	<i>MsPP2C9.4</i>	MS. gene062780. t1	1290	104424.60	5.08	0.635	28.84
<i>MsPP2C10</i>	<i>MsPP2C10.1</i>	MS. gene31801. t1	1146	90546.37	5.13	0.592	29.67
	<i>MsPP2C10.2</i>	MS. gene046807. t1	1146	90428.24	5.13	0.594	29.76
	<i>MsPP2C10.3</i>	MS. gene054115. t1	1143	90375.22	5.13	0.594	29.75
	<i>MsPP2C10.4</i>	MS. gene32362. t1	1146	90456.23	5.13	0.589	29.67
<i>MsPP2C11</i>	<i>MsPP2C11.1</i>	MS. gene32972. t1	1035	84023.58	5.12	0.716	32.66
	<i>MsPP2C11.2</i>	MS. gene24540. t1	1035	84023.58	5.12	0.716	32.66
	<i>MsPP2C11.3</i>	MS. gene051632. t1	1035	83993.55	5.12	0.719	32.75
<i>MsPP2C12</i>	<i>MsPP2C12.1</i>	MS. gene33055. t1	1581	128680.70	5.03	0.672	29.92
	<i>MsPP2C12.2</i>	MS. gene016147. t1	1581	128666.67	5.03	0.671	29.85
	<i>MsPP2C12.3</i>	MS. gene051542. t1	1581	128572.46	5.03	0.665	29.85
<i>MsPP2C13</i>	<i>MsPP2C13.1</i>	MS. gene33093. t1	885	72719.22	5.13	0.627	26.10
	<i>MsPP2C13.2</i>	MS. gene016115. t1	885	72699.16	5.13	0.626	26.33
	<i>MsPP2C13.3</i>	MS. gene051508. t1	885	72709.27	5.13	0.632	25.99
	<i>MsPP2C13.4</i>	MS. gene058460. t1	885	72709.27	5.13	0.632	25.99
<i>MsPP2C14</i>	<i>MsPP2C14.1</i>	MS. gene33129. t1	1083	88043.83	5.11	0.674	30.84
	<i>MsPP2C14.2</i>	MS. gene51544. t1	1083	88043.83	5.11	0.674	30.84
	<i>MsPP2C14.3</i>	MS. gene016066. t1	1083	88043.83	5.11	0.674	30.84
	<i>MsPP2C14.4</i>	MS. gene058498. t1	1074	87368.05	5.12	0.668	30.63

续表 Continued Table

基因名 Gene name	登录号 Gene ID	氨基酸长度 Amino acids length (aa)	分子量 Molecular weight (Da)	等电点 Isoelectric point (PI)	疏水性指数 Grand average of hydropathicity	蛋白稳定指数 Instability index	
<i>MsPP2C15</i>	<i>MsPP2C15.1</i>	MS. gene49375. t1	3216	266503.15	4.87	0.681	28.45
	<i>MsPP2C15.2</i>	MS. gene036187. t1	3216	266495.23	4.86	0.683	28.42
	<i>MsPP2C15.3</i>	MS. gene39941. t1	3216	266461.07	4.87	0.679	28.36
<i>MsPP2C16</i>	<i>MsPP2C16.1</i>	MS. gene52967. t1	750	60248.22	5.20	0.767	37.20
	<i>MsPP2C16.2</i>	MS. gene52969. t1	750	60248.22	5.20	0.767	37.20
	<i>MsPP2C16.3</i>	MS. gene066036. t1	750	60232.16	5.21	0.760	37.07
	<i>MsPP2C16.4</i>	MS. gene71414. t1	750	60228.09	5.21	0.751	37.07
	<i>MsPP2C16.5</i>	MS. gene004834. t1	750	60262.18	5.21	0.756	36.93
<i>MsPP2C17</i>	<i>MsPP2C17.1</i>	MS. gene65444. t1	813	65418.71	5.19	0.706	34.44
	<i>MsPP2C17.2</i>	MS. gene67179. t1	813	65272.32	5.20	0.679	34.44
	<i>MsPP2C17.3</i>	MS. gene063245. t1	813	65418.71	5.19	0.706	34.44
	<i>MsPP2C17.4</i>	MS. gene063247. t1	813	65358.60	5.19	0.699	34.32
	<i>MsPP2C17.5</i>	MS. gene053340. t1	813	65272.32	5.20	0.679	34.44
<i>MsPP2C18</i>	<i>MsPP2C18.1</i>	MS. gene76824. t1	1140	95103.25	5.07	0.632	25.88
	<i>MsPP2C18.2</i>	MS. gene060286. t1	1140	95149.33	5.07	0.634	25.88
	<i>MsPP2C18.3</i>	MS. gene91290. t1	1140	95103.25	5.07	0.632	25.88
	<i>MsPP2C18.4</i>	MS. gene71635. t1	1140	95087.19	5.08	0.632	25.79
<i>MsPP2C19</i>	<i>MsPP2C19.1</i>	MS. gene90129. t1	2067	171192.04	4.94	0.773	29.95
	<i>MsPP2C19.2</i>	MS. gene046149. t1	2067	171280.15	4.94	0.773	29.95
	<i>MsPP2C19.3</i>	MS. gene90785. t1	2067	171192.04	4.94	0.773	29.95
<i>MsPP2C20</i>	<i>MsPP2C20.1</i>	MS. gene029447. t1	1293	105060.65	5.06	0.644	27.76
	<i>MsPP2C20.2</i>	MS. gene71797. t1	1290	104837.37	5.07	0.645	28.06
	<i>MsPP2C20.3</i>	MS. gene73400. t1	1290	104827.41	5.07	0.648	27.98
<i>MsPP2C21</i>	<i>MsPP2C21</i>	MS. gene058502. t1	630	51155.95	5.23	0.618	30.16
<i>MsPP2C22</i>	<i>MsPP2C22</i>	MS. gene066442. t1	2373	197226.03	4.92	0.701	28.32
<i>MsPP2C23</i>	<i>MsPP2C23</i>	MS. gene30883. t1	1128	91758.89	5.11	0.672	30.94
<i>MsPP2C24</i>	<i>MsPP2C24</i>	MS. gene50548. t1	3312	275037.19	4.85	0.694	28.26
<i>MsPP2C25</i>	<i>MsPP2C25</i>	MS. gene74229. t1	1140	92962.88	5.08	0.723	30.53
<i>MsPP2C26</i>	<i>MsPP2C26</i>	MS. gene97348. t1	954	78693.24	5.11	0.682	27.25
<i>MsPP2C27</i>	<i>MsPP2C27</i>	MS. gene029096. t1	723	59220.06	5.18	0.602	26.83
<i>MsPP2C28</i>	<i>MsPP2C28</i>	MS. gene051557. t1	978	79195.34	5.11	0.675	28.43
<i>MsPP2C29</i>	<i>MsPP2C29</i>	MS. gene27242. t1	2412	200084.34	4.91	0.675	25.62
<i>MsPP2C30</i>	<i>MsPP2C30.1</i>	MS. gene44153. t1	1011	81997.20	5.12	0.674	30.37
	<i>MsPP2C30.2</i>	MS. gene056087. t1	1011	82011.23	5.12	0.676	30.46
<i>MsPP2C31</i>	<i>MsPP2C31</i>	MS. gene058428. t1	1662	135260.80	5.02	0.661	29.78
<i>MsPP2C32</i>	<i>MsPP2C32</i>	MS. gene34043. t1	804	66287.08	5.16	0.650	28.73
<i>MsPP2C33</i>	<i>MsPP2C33</i>	MS. gene90828. t1	1044	86277.56	5.09	0.671	27.30
<i>MsPP2C34</i>	<i>MsPP2C34</i>	MS. gene00149. t1	1122	93189.21	5.08	0.654	26.56
<i>MsPP2C35</i>	<i>MsPP2C35</i>	MS. gene00252. t1	1068	87134.17	5.12	0.741	33.90
<i>MsPP2C36</i>	<i>MsPP2C36</i>	MS. gene002822. t1	1323	108491.56	5.08	0.530	25.17
<i>MsPP2C37</i>	<i>MsPP2C37</i>	MS. gene00310. t1	1470	121764.72	5.03	0.676	28.71
<i>MsPP2C38</i>	<i>MsPP2C38</i>	MS. gene01171. t1	846	69040.60	5.13	0.734	29.55
<i>MsPP2C39</i>	<i>MsPP2C39</i>	MS. gene055841. t1	1416	114739.94	5.06	0.640	29.17
<i>MsPP2C40</i>	<i>MsPP2C40</i>	MS. gene060697. t1	852	68342.85	5.17	0.674	32.28

续表 Continued Table

基因名 Gene name		登录号 Gene ID	氨基酸长度 Amino acids length (aa)	分子量 Molecular weight (Da)	等电点 Isoelectric point (PI)	疏水性指数 Grand average of hydropathicity	蛋白稳定指数 Instability index
<i>MsPP2C41</i>	<i>MsPP2C41</i>	MS. gene83625. t1	1647	133538. 13	5. 03	0. 725	33. 27
<i>MsPP2C42</i>	<i>MsPP2C42. 1</i>	MS. gene95728. t1	1413	115160. 02	5. 04	0. 667	28. 45
	<i>MsPP2C42. 2</i>	MS. gene99915. t1	1413	115210. 23	5. 04	0. 680	28. 66
	<i>MsPP2C42. 3</i>	MS. gene073232. t1	1413	115131. 94	5. 05	0. 671	29. 02
<i>MsPP2C43</i>	<i>MsPP2C43. 1</i>	MS. gene028339. t1	1149	91753. 66	5. 12	0. 728	34. 81
	<i>MsPP2C43. 2</i>	MS. gene35120. t1	1146	91494. 40	5. 12	0. 731	34. 90
<i>MsPP2C44</i>	<i>MsPP2C44. 1</i>	MS. gene053188. t1	1095	88940. 75	5. 10	0. 622	27. 12
	<i>MsPP2C44. 2</i>	MS. gene65413. t1	1095	89002. 83	5. 10	0. 620	26. 94
	<i>MsPP2C44. 3</i>	MS. gene034202. t1	1095	88942. 78	5. 10	0. 625	27. 12
<i>MsPP2C45</i>	<i>MsPP2C45. 1</i>	MS. gene071172. t1	2136	174258. 97	4. 98	0. 597	27. 76
	<i>MsPP2C45. 2</i>	MS. gene004042. t1	2136	174373. 03	4. 98	0. 592	27. 72
<i>MsPP2C46</i>	<i>MsPP2C46. 1</i>	MS. gene29094. t1	1482	123809. 77	5. 02	0. 723	29. 08
	<i>MsPP2C46. 2</i>	MS. gene031809. t1	1482	123827. 86	5. 01	0. 728	29. 15
	<i>MsPP2C46. 3</i>	MS. gene052324. t1	1476	123227. 12	5. 02	0. 727	29. 34
<i>MsPP2C47</i>	<i>MsPP2C47. 1</i>	MS. gene33415. t1	714	58794. 62	5. 20	0. 657	31. 37
	<i>MsPP2C47. 2</i>	MS. gene068286. t1	714	58804. 73	5. 19	0. 665	30. 95
<i>MsPP2C48</i>	<i>MsPP2C48. 1</i>	MS. gene90184. t1	837	68325. 03	5. 13	0. 771	30. 35
	<i>MsPP2C48. 2</i>	MS. gene70365. t1	837	68292. 97	5. 13	0. 770	30. 47
<i>MsPP2C49</i>	<i>MsPP2C49. 1</i>	MS. gene015804. t1	1218	98683. 34	5. 05	0. 700	27. 09
	<i>MsPP2C49. 2</i>	MS. gene048762. t1	1218	98683. 34	5. 05	0. 700	27. 09
	<i>MsPP2C49. 3</i>	MS. gene05869. t1	1218	98727. 40	5. 05	0. 700	27. 09
<i>MsPP2C50</i>	<i>MsPP2C50. 1</i>	MS. gene015806. t1	693	55457. 96	5. 19	0. 683	30. 16
	<i>MsPP2C50. 2</i>	MS. gene015809. t1	693	55457. 96	5. 19	0. 683	30. 16
<i>MsPP2C51</i>	<i>MsPP2C51</i>	MS. gene28710. t1	1062	84983. 23	5. 13	0. 718	34. 27
<i>MsPP2C52</i>	<i>MsPP2C52. 1</i>	MS. gene29975. t1	3138	262542. 44	4. 86	0. 731	29. 16
	<i>MsPP2C52. 2</i>	MS. gene015672. t1	3138	258203. 68	4. 86	0. 739	29. 42
<i>MsPP2C53</i>	<i>MsPP2C53</i>	MS. gene33672. t1	1041	85487. 02	5. 13	0. 675	32. 08
<i>MsPP2C54</i>	<i>MsPP2C54</i>	MS. gene66733. t1	894	72890. 27	5. 14	0. 672	29. 98
<i>MsPP2C55</i>	<i>MsPP2C55</i>	MS. gene021118. t1	2148	175149. 83	4. 98	0. 590	27. 56
<i>MsPP2C56</i>	<i>MsPP2C56</i>	MS. gene046004. t1	1167	94989. 71	5. 09	0. 671	29. 05
<i>MsPP2C57</i>	<i>MsPP2C57</i>	MS. gene35016. t1	939	76339. 79	5. 11	0. 764	30. 78
<i>MsPP2C58</i>	<i>MsPP2C58</i>	MS. gene010207. t1	798	65049. 84	5. 16	0. 714	31. 20
<i>MsPP2C59</i>	<i>MsPP2C59. 1</i>	MS. gene024680. t1	1002	79566. 32	5. 16	0. 550	28. 04
	<i>MsPP2C59. 2</i>	MS. gene22312. t1	1002	79536. 29	5. 16	0. 553	28. 14
<i>MsPP2C60</i>	<i>MsPP2C60. 1</i>	MS. gene57009. t1	1140	94290. 07	5. 08	0. 626	26. 40
	<i>MsPP2C60. 2</i>	MS. gene50189. t1	1140	94286. 07	5. 08	0. 630	26. 67
	<i>MsPP2C60. 3</i>	MS. gene009825. t1	1140	94298. 00	5. 08	0. 620	26. 49
	<i>MsPP2C60. 4</i>	MS. gene54188. t1	1140	94300. 03	5. 08	0. 623	26. 49
<i>MsPP2C61</i>	<i>MsPP2C61</i>	MS. gene92320. t1	1500	122816. 86	5. 05	0. 626	29. 00
<i>MsPP2C62</i>	<i>MsPP2C62. 1</i>	MS. gene024897. t1	1656	136620. 07	5. 03	0. 612	28. 56
	<i>MsPP2C62. 2</i>	MS. gene000126. t1	1656	136620. 07	5. 03	0. 612	28. 56
<i>MsPP2C63</i>	<i>MsPP2C63</i>	MS. gene035882. t1	2241	186919. 33	4. 91	0. 868	31. 86
<i>MsPP2C64</i>	<i>MsPP2C64</i>	MS. gene21660. t1	423	34050. 38	5. 29	0. 693	32. 39
<i>MsPP2C65</i>	<i>MsPP2C65</i>	MS. gene21661. t1	606	47873. 53	5. 26	0. 449	24. 75

续表 Continued Table

基因名 Gene name		登录号 Gene ID	氨基酸长度 Amino acids length (aa)	分子量 Molecular weight (Da)	等电点 Isoelectric point (PI)	疏水性指数 Grand average of hydropathicity	蛋白稳定指数 Instability index
<i>MsPP2C66</i>	<i>MsPP2C66.1</i>	MS. gene32520. t1	1176	94517.68	5.09	0.638	28.57
	<i>MsPP2C66.2</i>	MS. gene57854. t1	1182	94834.03	5.09	0.641	28.51
	<i>MsPP2C66.3</i>	MS. gene29514. t1	1176	94323.25	5.10	0.615	27.98
	<i>MsPP2C66.4</i>	MS. gene50135. t1	1176	94403.55	5.09	0.638	28.40
<i>MsPP2C67</i>	<i>MsPP2C67</i>	MS. gene64771. t1	186	15537.15	5.39	0.645	28.49
<i>MsPP2C68</i>	<i>MsPP2C68</i>	MS. gene043953. t1	813	66322.29	5.15	0.717	31.12
<i>MsPP2C69</i>	<i>MsPP2C69</i>	MS. gene072731. t1	1089	86488.82	5.15	0.566	29.29
<i>MsPP2C70</i>	<i>MsPP2C70</i>	MS. gene37621. t1	2667	221359.20	4.90	0.754	31.20
<i>MsPP2C71</i>	<i>MsPP2C71</i>	MS. gene038337. t1	4110	339498.81	4.82	0.756	32.38
<i>MsPP2C72</i>	<i>MsPP2C72</i>	MS. gene066330. t1	849	69351.46	5.15	0.697	31.33
<i>MsPP2C73</i>	<i>MsPP2C73</i>	MS. gene019931. t1	795	64725.93	5.17	0.590	26.92
<i>MsPP2C74</i>	<i>MsPP2C74.1</i>	MS. gene061461. t1	3219	265191.36	4.88	0.641	28.02
	<i>MsPP2C74.2</i>	MS. gene69037. t1	3219	265109.12	4.88	0.641	28.36
	<i>MsPP2C74.3</i>	MS. gene72233. t1	3219	265026.88	4.88	0.641	28.18
	<i>MsPP2C74.4</i>	MS. gene059587. t1	3219	265179.28	4.88	0.641	28.21
<i>MsPP2C75</i>	<i>MsPP2C75.1</i>	MS. gene59990. t1	2925	242342.05	4.89	0.738	31.08
	<i>MsPP2C75.2</i>	MS. gene017855. t1	3294	272347.91	4.87	0.731	31.39
<i>MsPP2C76</i>	<i>MsPP2C76.1</i>	MS. gene60001. t1	999	81692.86	5.12	0.628	27.73
	<i>MsPP2C76.2</i>	MS. gene81886. t1	966	78694.58	5.13	0.648	28.67
<i>MsPP2C77</i>	<i>MsPP2C77</i>	MS. gene031169. t1	1230	100074.21	5.08	0.672	29.76
<i>MsPP2C78</i>	<i>MsPP2C78</i>	MS. gene042360. t1	1062	87141.72	5.12	0.618	28.44
<i>MsPP2C79</i>	<i>MsPP2C79</i>	MS. gene55610. t1	531	43430.87	5.24	0.683	30.51
<i>MsPP2C80</i>	<i>MsPP2C80</i>	MS. gene93963. t1	999	81254.85	5.11	0.715	30.13
<i>MsPP2C81</i>	<i>MsPP2C81</i>	MS. gene93987. t1	3006	248435.84	4.88	0.747	31.47
<i>MsPP2C82</i>	<i>MsPP2C82</i>	MS. gene05343. t1	894	73020.63	5.13	0.678	28.75
<i>MsPP2C83</i>	<i>MsPP2C83</i>	MS. gene59304. t1	291	23476.79	5.34	0.659	29.55
<i>MsPP2C84</i>	<i>MsPP2C84</i>	MS. gene000916. t1	1569	130638.19	5.01	0.731	30.27
<i>MsPP2C85</i>	<i>MsPP2C85</i>	MS. gene000918. t1	1038	85782.10	5.13	0.599	28.71
<i>MsPP2C86</i>	<i>MsPP2C86.1</i>	MS. gene024043. t1	1509	122967.07	5.03	0.729	31.01
	<i>MsPP2C86.2</i>	MS. gene033479. t1	1509	122985.10	5.03	0.728	30.88
	<i>MsPP2C86.3</i>	MS. gene51155. t1	1509	122920.98	5.03	0.727	31.01
<i>MsPP2C87</i>	<i>MsPP2C87</i>	MS. gene027312. t1	2391	197494.28	4.93	0.752	31.74
<i>MsPP2C88</i>	<i>MsPP2C88.1</i>	MS. gene050936. t1	1134	92628.07	5.10	0.687	30.95
	<i>MsPP2C88.2</i>	MS. gene072534. t1	1134	92628.07	5.10	0.687	30.95
	<i>MsPP2C88.3</i>	MS. gene22798. t1	1134	92598.05	5.10	0.689	31.04
	<i>MsPP2C88.4</i>	MS. gene054423. t1	1134	92549.87	5.10	0.675	30.78
<i>MsPP2C89</i>	<i>MsPP2C89.1</i>	MS. gene050939. t1	1287	105812.37	5.04	0.696	27.58
	<i>MsPP2C89.2</i>	MS. gene050733. t1	1287	105810.34	5.05	0.694	27.58
	<i>MsPP2C89.3</i>	MS. gene072536. t1	1287	105810.34	5.05	0.694	27.58
	<i>MsPP2C89.4</i>	MS. gene072537. t1	1287	105810.34	5.05	0.694	27.58
	<i>MsPP2C89.5</i>	MS. gene050735. t1	1287	105810.34	5.05	0.694	27.58
	<i>MsPP2C89.6</i>	MS. gene22800. t1	1287	105810.34	5.05	0.694	27.58
	<i>MsPP2C89.7</i>	MS. gene054420. t1	1287	105866.32	5.05	0.685	27.43
<i>MsPP2C90</i>	<i>MsPP2C90</i>	MS. gene055994. t1	1059	86155.54	5.12	0.641	29.93

续表 Continued Table

基因名 Gene name	登录号 Gene ID	氨基酸长度 Amino acids length (aa)	分子量 Molecular weight (Da)	等电点 Isoelectric point (PI)	疏水性指数 Grand average of hydropathicity	蛋白稳定指数 Instability index	
<i>MsPP2C91</i>	<i>MsPP2C91.1</i>	MS. gene055998. t1	1200	97837.48	5.10	0.648	29.92
	<i>MsPP2C91.2</i>	MS. gene056000. t1	1200	97837.48	5.10	0.648	29.92
	<i>MsPP2C91.3</i>	MS. gene017986. t1	1200	97837.48	5.10	0.648	29.92
<i>MsPP2C92</i>	<i>MsPP2C92</i>	MS. gene056001. t1	771	62483.58	5.18	0.645	29.57
<i>MsPP2C93</i>	<i>MsPP2C93.1</i>	MS. gene056002. t1	1155	94336.79	5.10	0.657	29.70
	<i>MsPP2C93.2</i>	MS. gene52660. t1	1206	98229.94	5.09	0.650	29.77
<i>MsPP2C94</i>	<i>MsPP2C94.1</i>	MS. gene09827. t1	1113	90700.79	5.11	0.686	31.81
	<i>MsPP2C94.2</i>	MS. gene36529. t1	1113	90716.85	5.11	0.691	31.90
	<i>MsPP2C94.3</i>	MS. gene061919. t1	1113	90702.82	5.11	0.689	31.81
	<i>MsPP2C94.4</i>	MS. gene018535. t1	1113	90700.79	5.11	0.686	31.81
<i>MsPP2C95</i>	<i>MsPP2C95.1</i>	MS. gene23876. t1	1359	110389.60	5.08	0.567	27.15
	<i>MsPP2C95.2</i>	MS. gene43152. t1	1359	110373.54	5.08	0.563	27.08
	<i>MsPP2C95.3</i>	MS. gene97281. t1	1359	110361.54	5.08	0.564	27.01
	<i>MsPP2C95.4</i>	MS. gene022131. t1	1359	110367.64	5.08	0.571	27.01
<i>MsPP2C96</i>	<i>MsPP2C96.1</i>	MS. gene38816. t1	1590	130185.68	5.03	0.690	30.38
	<i>MsPP2C96.2</i>	MS. gene014047. t1	1590	130139.59	5.03	0.688	30.38
<i>MsPP2C97</i>	<i>MsPP2C97.1</i>	MS. gene42584. t1	1392	113605.78	5.04	0.731	30.89
	<i>MsPP2C97.2</i>	MS. gene017817. t1	1392	113635.80	5.04	0.729	30.82
<i>MsPP2C98</i>	<i>MsPP2C98.1</i>	MS. gene98698. t1	1341	109277.40	5.07	0.704	32.14
	<i>MsPP2C98.2</i>	MS. gene024363. t1	1341	109267.50	5.07	0.714	32.29
<i>MsPP2C99</i>	<i>MsPP2C99</i>	MS. gene014058. t1	1779	144424.51	4.97	0.854	32.66
<i>MsPP2C100</i>	<i>MsPP2C100</i>	MS. gene050730. t1	993	81038.47	5.11	0.660	27.39
<i>MsPP2C101</i>	<i>MsPP2C101.1</i>	MS. gene050732. t1	1029	84832.91	5.09	0.666	27.02
	<i>MsPP2C101.2</i>	MS. gene22801. t1	1029	84832.91	5.09	0.666	27.02
<i>MsPP2C102</i>	<i>MsPP2C102</i>	MS. gene79175. t1	2010	168532.28	4.94	0.745	28.21
<i>MsPP2C103</i>	<i>MsPP2C103.1</i>	MS. gene91714. t1	1683	139989.93	5.01	0.682	29.41
	<i>MsPP2C103.2</i>	MS. gene64542. t1	1683	139587.42	5.01	0.684	29.59
<i>MsPP2C104</i>	<i>MsPP2C104</i>	MS. gene42872. t1	1344	109446.79	5.07	0.721	32.22
<i>MsPP2C105</i>	<i>MsPP2C105</i>	MS. gene017802. t1	1944	159318.53	4.97	0.728	30.50
<i>MsPP2C106</i>	<i>MsPP2C106</i>	MS. gene017804. t1	1158	94596.07	5.10	0.680	31.61
<i>MsPP2C107</i>	<i>MsPP2C107.1</i>	MS. gene040416. t1	1275	104355.94	5.07	0.659	29.33
	<i>MsPP2C107.2</i>	MS. gene040417. t1	1275	104355.94	5.07	0.659	29.33
	<i>MsPP2C107.3</i>	MS. gene57690. t1	1275	104355.94	5.07	0.659	29.33
<i>MsPP2C108</i>	<i>MsPP2C108</i>	MS. gene04623. t1	1107	90196.20	5.11	0.668	30.62
<i>MsPP2C109</i>	<i>MsPP2C109</i>	MS. gene071544. t1	1269	103851.39	5.07	0.659	29.31
<i>MsPP2C110</i>	<i>MsPP2C110</i>	MS. gene072539. t1	1119	91806.49	5.08	0.669	27.70
<i>MsPP2C111</i>	<i>MsPP2C111</i>	MS. gene42145. t1	1137	93024.08	5.09	0.751	32.10
<i>MsSnRK2-1</i>	<i>MsSnRK2-1.1</i>	MS. gene040840. t1	1098	89959.36	5.09	-0.683	34.98
	<i>MsSnRK2-1.2</i>	MS. gene061667. t1	1098	90113.68	5.09	-0.696	37.75
	<i>MsSnRK2-1.3</i>	MS. gene061060. t1	1098	90095.65	5.09	-0.698	36.78
<i>MsSnRK2-2</i>	<i>MsSnRK2-2.1</i>	MS. gene00631. t1	1056	86167.63	5.09	-0.757	38.88
	<i>MsSnRK2-2.2</i>	MS. gene002061. t1	1056	86195.68	5.09	-0.761	38.84
	<i>MsSnRK2-2.3</i>	MS. gene072046. t1	1056	86167.63	5.09	-0.757	38.88
<i>MsSnRK2-3</i>	<i>MsSnRK2-3</i>	MS. gene06330. t1	822	67949.34	5.14	-0.694	35.21
<i>MsSnRK2-4</i>	<i>MsSnRK2-4.1</i>	MS. gene40960. t1	924	76238.56	5.12	-0.723	35.50
	<i>MsSnRK2-4.2</i>	MS. gene049215. t1	924	76238.56	5.12	-0.723	35.50

续表 Continued Table

基因名 Gene name	登录号 Gene ID	氨基酸长度 Amino acids length (aa)	分子量 Molecular weight (Da)	等电点 Isoelectric point (PI)	疏水性指数 Grand average of hydropathicity	蛋白稳定指数 Instability index	
<i>MsSnRK2-5</i>	<i>MsSnRK2-5.1</i>	MS. gene75501. t1	3384	277906.48	4.86	-0.760	34.62
	<i>MsSnRK2-5.2</i>	MS. gene84699. t1	3459	284194.03	4.86	-0.743	32.93
<i>MsSnRK2-6</i>	<i>MsSnRK2-6</i>	MS. gene013244. t1	924	76238.56	5.12	-0.723	35.50
<i>MsSnRK2-7</i>	<i>MsSnRK2-7.1</i>	MS. gene26550. t1	1092	89685.15	5.10	-0.697	32.61
	<i>MsSnRK2-7.2</i>	MS. gene39604. t1	1092	89588.91	5.10	-0.685	31.08
	<i>MsSnRK2-7.3</i>	MS. gene47497. t1	1092	89618.94	5.10	-0.683	31.38
	<i>MsSnRK2-7.4</i>	MS. gene008748. t1	1092	89618.94	5.10	-0.683	31.38
<i>MsSnRK2-8</i>	<i>MsSnRK2-8.1</i>	MS. gene57326. t1	1020	83579.95	5.13	-0.686	33.02
	<i>MsSnRK2-8.2</i>	MS. gene030841. t1	1020	83593.98	5.13	-0.688	32.95
	<i>MsSnRK2-8.3</i>	MS. gene061812. t1	1020	83561.92	5.13	-0.687	33.38
	<i>MsSnRK2-8.4</i>	MS. gene28044. t1	1020	83581.98	5.13	-0.689	33.10
<i>MsSnRK2-9</i>	<i>MsSnRK2-9</i>	MS. gene70142. t1	1065	86338.11	5.11	-0.679	32.84
<i>MsSnRK2-10</i>	<i>MsSnRK2-10</i>	MS. gene030542. t1	1092	88641.69	5.10	-0.687	33.15
<i>MsSnRK2-11</i>	<i>MsSnRK2-11</i>	MS. gene73690. t1	2607	215353.77	4.90	-0.694	38.57
<i>MsSnRK2-12</i>	<i>MsSnRK2-12</i>	MS. gene49743. t1	2538	209373.84	4.91	-0.683	37.76
<i>MsSnRK2-13</i>	<i>MsSnRK2-13.1</i>	MS. gene54194. t1	1023	83308.56	5.13	-0.673	35.24
	<i>MsSnRK2-13.2</i>	MS. gene09701. t1	1023	83262.48	5.13	-0.670	35.07
	<i>MsSnRK2-13.3</i>	MS. gene21513. t1	1023	83308.56	5.13	-0.673	35.24
	<i>MsSnRK2-13.4</i>	MS. gene015364. t1	1023	83308.56	5.13	-0.673	35.32
<i>MsSnRK2-14</i>	<i>MsSnRK2-14.1</i>	MS. gene035840. t1	1020	84046.88	5.11	-0.704	36.21
	<i>MsSnRK2-14.2</i>	MS. gene043911. t1	1020	83984.73	5.12	-0.696	35.65
	<i>MsSnRK2-14.3</i>	MS. gene050081. t1	1020	84076.91	5.11	-0.702	35.69
	<i>MsSnRK2-14.4</i>	MS. gene64068. t1	1020	83930.72	5.11	-0.700	35.30
<i>MsSnRK2-15</i>	<i>MsSnRK2-15.1</i>	MS. gene011598. t1	1014	82739.35	5.11	-0.703	35.92
	<i>MsSnRK2-15.2</i>	MS. gene61262. t1	1014	82605.21	5.11	-0.711	35.76
	<i>MsSnRK2-15.3</i>	MS. gene72373. t1	1014	82647.23	5.12	-0.708	35.52
	<i>MsSnRK2-15.4</i>	MS. gene46397. t1	1014	82647.23	5.12	-0.708	35.52

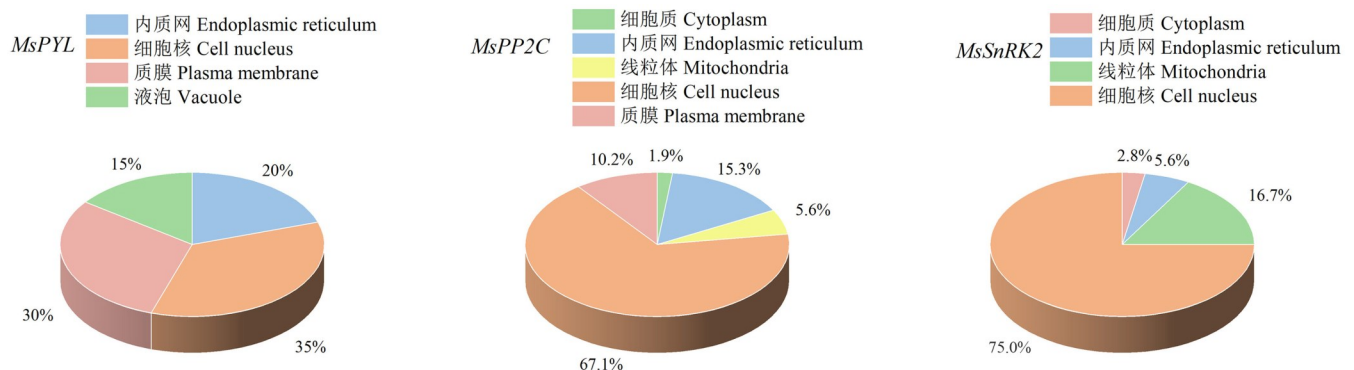


图 1 新疆大叶苜蓿 *PYL-PP2C-SnRK2* 家族亚细胞定位预测

Fig. 1 Subcellular localization prediction for the *PYL-PP2C-SnRK2* family in *M. sativa* 'Xinjiangdaye'

2.2 染色体定位和共线性分析

染色体定位分析结果显示(图 2), *MsPYL/PP2C/SnRK2s* 除在 chr2. 2 上无分布之外, 在其余染色体上均有分布, 但主要分布在 Chr1/4/5/7 上, 其他染色体分布的基因成员仅占全部成员的 4.37% (51:292)。说明 *MsPYL/*

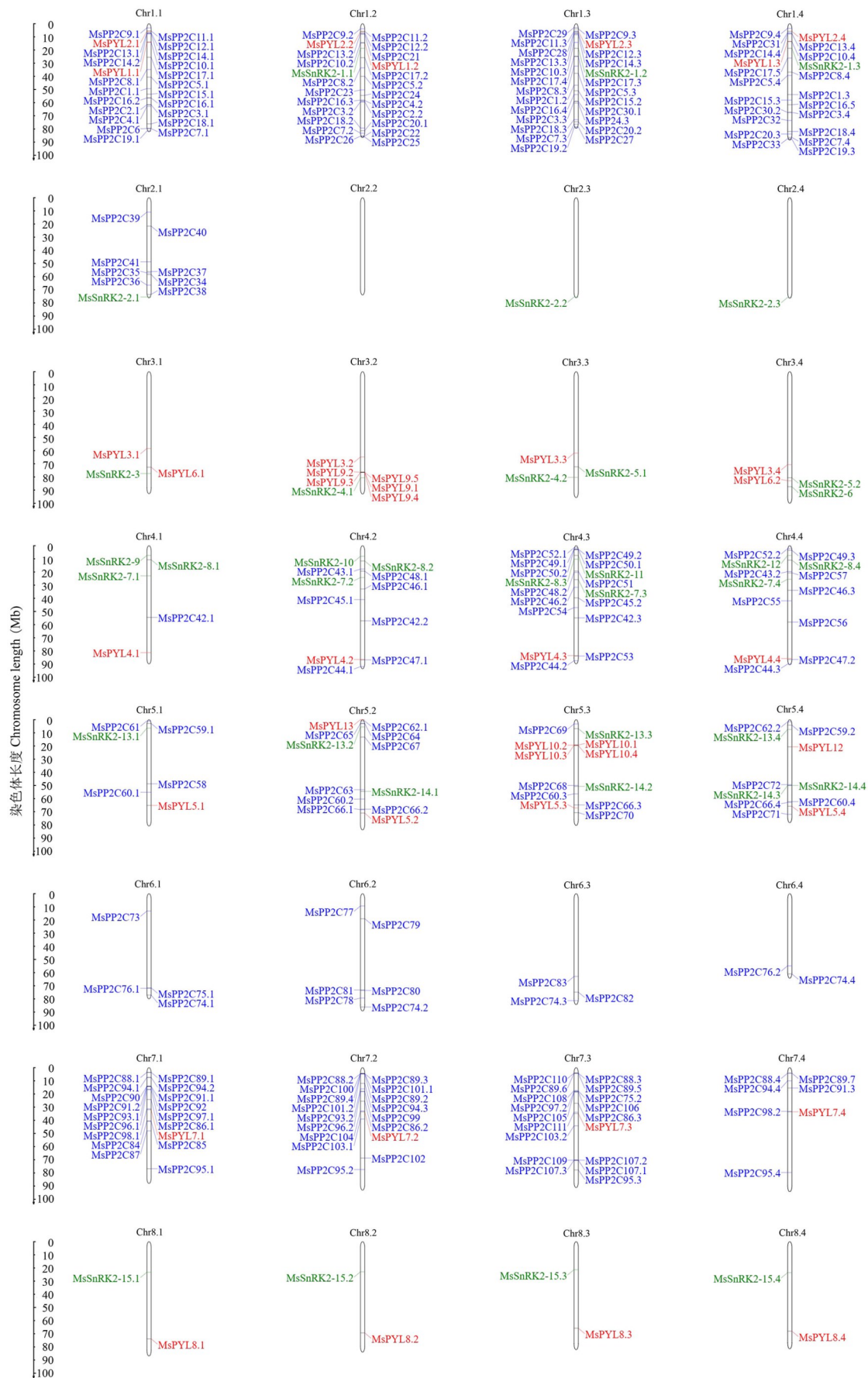


图2 新疆大叶苜蓿 *PYL-PP2C-SnRK2* 家族染色体定位分析

Fig. 2 Chromosomal localization analysis of the *PYL-PP2C-SnRK2* family in *M. sativa* 'Xinjiangdaye'

*PP2C/SnRK2s* 在染色体上的分布具有明显的特异性。另外,由于新疆大叶苜蓿基因组是同源四倍体,因此 *MsPYL/PP2C/SnRK2s* 在大部分同源染色体上的分布具有相似性,例如 chr8.1~8.4 上均分布 1 个 *MsSnRK2* 和 1 个 *MsPYL* 基因,并且 *MsSnRK2* 和 *MsPYL* 在 4 条同源染色体上的相对位置接近一致。在 *MsPYLs*、*MsPP2Cs*、*MsSnRK2s* 基因家族中,分别存在 93、473 和 73 个共线性基因对(图 2),并且发现新疆大叶苜蓿基因组中存在大量的重复片段(图 3)。

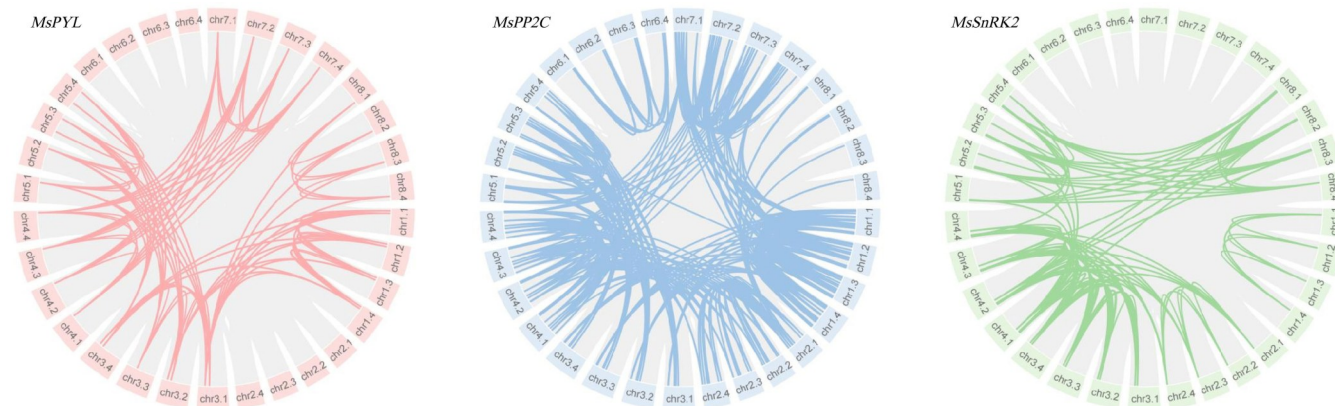


图 3 新疆大叶苜蓿 *PYL-PP2C-SnRK2* 家族种内共线性关系

Fig. 3 Intraspecific collinearity relationships of the *PYL-PP2C-SnRK2* family in *M. sativa* 'Xinjiangdaye'

### 2.3 系统进化分析

为了探究紫花苜蓿 *MsPYLs*、*MsPP2Cs* 和 *MsSnRK2s* 基因家族成员的进化关系,本研究基于最大似然法分别构建了包含紫花苜蓿和拟南芥的 *PYLs*、*PP2Cs* 和 *SnRK2s* 系统发育树(图 4)。在 *PYL* 进化树中,10 个 *MsPYL* 根据亲缘关系被划分为 3 个亚组(A~C),A 亚组 4 个 *MsPYLs*、B 亚组 2 个 *MsPYLs*、C 亚组 4 个 *MsPYLs*。将 111 个 *MsPP2Cs* 和 80 个拟南芥 *PP2C* 基因根据亲缘关系被划分为 13 个亚组(A~E、F1、F2、G~L)。其中亚组 B 中 *MsPP2C* 数量最多,有 18 个;亚组 E 次之,有 16 个;而亚族 H、I、L 中 *MsPP2C* 数量较少,只有 2 个。可将 15 个 *MsSnRK2* 根据亲缘关系划分为 3 个亚组(A~C),A 亚组 2 个 *MsSnRK2s*、B 亚组 5 个 *MsSnRK2s*、C 亚组 8 个 *MsSnRK2s*。

### 2.4 基因家族结构特征

*MsPYLs* 家族成员共包含 10 个 Motif,其中 *MsPYL2* 仅有 6 个 Motif,而在进化树中位于 A 分支的 *MsPYL1/6/8/9* 均包含 10 个 Motif,其余 *MsPYLs* 包含 8~9 个,造成 Motif 数量差异的原因是是否含有 Motif8 和 Motif10(图 5)。基因结构显示,*MsPYL1/6/8/9* 均由 3 个外显子组成,其余 *MsPYLs* 基因均仅有 1 个外显子。值得关注的是,所有 *MsPYLs* 基因均只包含 *PYR\_PYL\_CRAR\_like* 结构域。

*MsSnRK2s* 家族成员共包含 15 个 Motif,除 *MsSnRK2-11/12/5* 外,其余 *MsSnRK2* 含有的 Motif 数量和 Motif 的相对位置均一致(图 6)。均含有 2 个 Motif1, *MsSnRK2-15* 含有 2 个 Motif4 和 Motif8。基因结构分析显示,除 *MsSnRK2-4/5/6/11/12* 外,大部分 *MsSnRK2s* 基因由 9 个外显子构成, *MsSnRK2-11* 含有的外显子数目最多,为 23 个。结构域分析结果显示, *MsSnRK2s* 含有 2 个 *SnRK2* 家族的特征结构域(*STKc\_Snrk2-3* 和 *STKc\_Snrk2*),除 *MsSnRK2-1/7* 包含的是 *STKc\_Snrk2-3* 结构域外,其余 *MsSnRK2* 包含结构域 *STKc\_Snrk2*。值得关注的是, *MsSnRK2-11/12* 还含有 1 个 *PLN02449* 家族的结构域, *MsSnRK2-5* 还含有 1 个 *RsmB superfamily* 结构域,提示它们可能具有其他生物功能。

*MsPP2Cs* 家族成员共包含 10 个 Motif,其中 *MsPP2C67* 只含有 1 个 Motif,而其余的 *MsPP2Cs* 成员均含有 2~11 个 Motif,其中 *MsPP2C95* 包含 2 个 Motif10,因此含有 11 个 Motif(图 7)。与 Motif 分布情况相似的是, *MsPP2Cs* 的基因结构也存在较大差异,有 4 个 *MsPP2Cs* 仅有 1 个外显子,而含有外显子最多的成员 *MsPP2C22* 有 22 个外显子,其余 *MsPP2Cs* 基因含有的外显子数量在 2~20 个。与 *MsPYLs* 相比, *MsPP2Cs* 含有的结构域在不同家族成

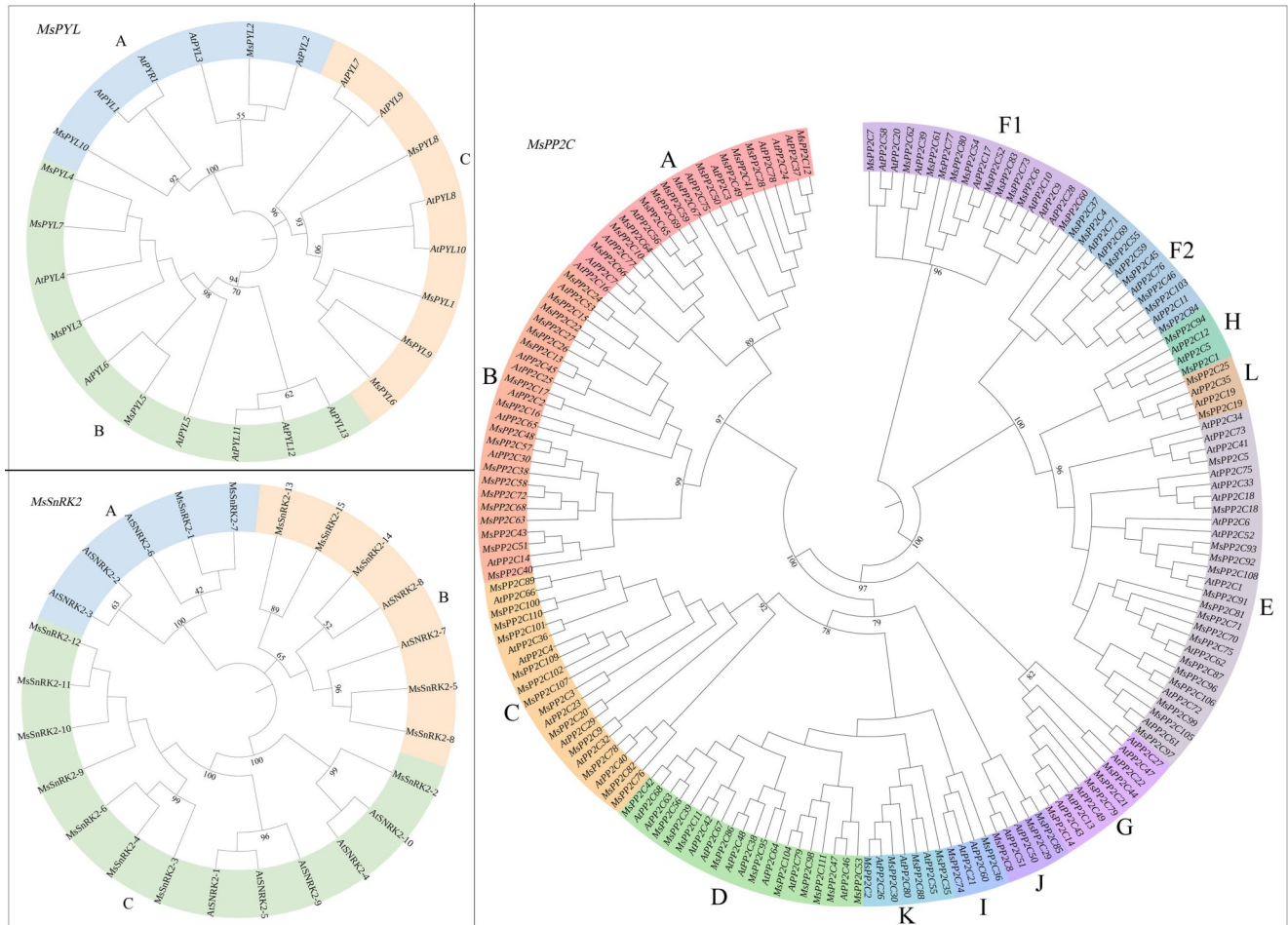


图4 新疆大叶苜蓿 *PYL-PP2C-SnRK2* 家族系统进化树

Fig. 4 Phylogenetic tree of the *PYL-PP2C-SnRK2* family in *M. sativa* ‘Xinjiangdaye’

图中分支下方数字表示支持率。The numbers below the branches in the figure indicate the support rate.

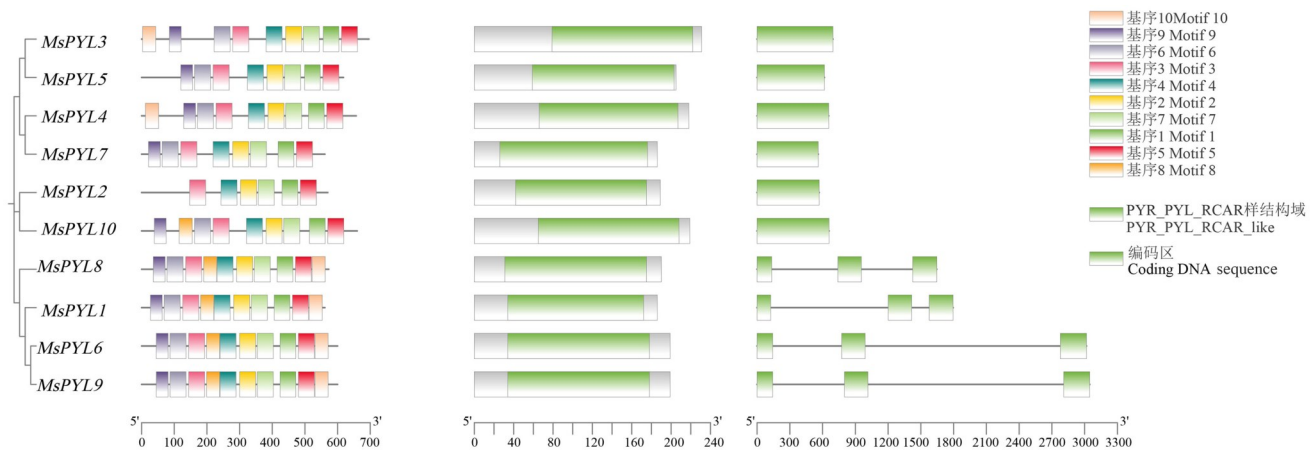
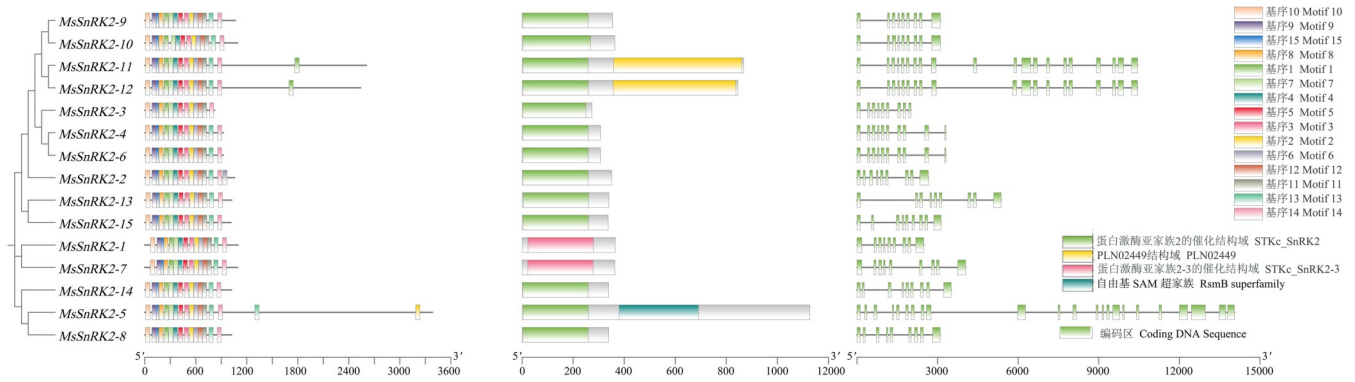


图5 *PYL* 保守基序、保守结构域、基因结构分析

Fig. 5 *PYL* conserved motifs, conserved structural domains, and gene structure analysis

员之间具有明显的差异。值得关注的是,所有的 *MsPP2Cs* 均含有 PP2Cc 结构域,但除此之外,在不同的家族成员中还含有蛋白激酶 C 样家族结构域 (PKC\_like superfamily) 和糖苷水解酶第 20 家族 (GH20\_hexosaminidase superfamily glycohydro) 等 23 个具有其他功能的结构域。以上结果说明, *MsPP2Cs* 的进化并不保守,这种进化方式可能使得 *MsPP2Cs* 具有新的基因功能。

图 6 *SnRK2* 保守基序、保守结构域、基因结构分析Fig. 6 *SnRK2* conserved motifs, conserved structural domains, and gene structure analysis

## 2.5 顺式作用元件分析

为进一步了解 *MsPYL*、*MsPP2C* 和 *MsSnRK2s* 的功能,本研究分析了其基因家族成员启动子区域的顺式作用元件。结果表明,其基因家族在应对非生物胁迫方面具有广泛的潜在机制,其基因家族的启动子区主要包含与胁迫、生长发育、植物激素相关的顺式作用元件(图 8~10),有光响应元件(light responsiveness)、低温响应元件(low temperature responsiveness)、厌氧诱导响应元件(anaerobic induction)和 MYB 结合位点相关的响应元件(MYB binding site involved)。除此之外,还包含 6 类激素应答元件,包括脱落酸响应元件(abscisic acid responsiveness)、水杨酸响应元件(salicylic acid responsiveness)、赤霉素响应元件(gibberellin responsiveness)、生长素响应元件(auxin responsiveness)、茉莉酸甲酯响应元件(MeJA-responsiveness)和乙烯响应元件(dehydration-responsive element, DRE)。以上结果表明, *MsPYL*、*MsPP2C*、*MsSnRK2s* 在调节紫花苜蓿生长发育及应对非生物胁迫中可能发挥着重要作用。

## 2.6 干旱胁迫下的表达模式分析

干旱胁迫下的表达量分析结果(图 11)显示,紫花苜蓿叶片中分别表达了 32 个 *MsPYLs*、179 个 *MsPP2Cs* 和 27 个 *MsSnRK2s* 基因(FPKM>1)。在 *MsPYLs* 家族中,有 10 个主要表达成员,其中 4 个 *MsPYL8* 的表达水平明显高于其他成员。在 *MsPP2Cs* 家族中,有 70 个成员表达水平较高,其中 *MsPP2C66. 2/31/66. 4/66. 3/95. 4/13. 2/99* 表达水平显著高于其他成员。在 *MsSnRK2s* 家族中,有 8 个成员的表达水平较高,包括 *MsSnRK2-15. 4/3/14. 2/7. 1/15. 2/14. 1/1. 2/9*。为了探索 3 个基因家族成员对干旱胁迫的响应模式,使用单因素方差分析了 FPKM>1 的基因在干旱胁迫后的表达差异,结果显示(图 12),在 *MsPYLs* 家族中, *MsPYL4. 4/7. 3/7. 4/8. 1* 在干旱胁迫后表达差异显著( $P<0.05$ ),其中 *MsPYL7. 3* 和 *MsPYL7. 4* 在干旱胁迫后表达水平持续下调,在重度胁迫下分别下调了 68.75% 和 82.47%。与之相反, *MsPYL4. 4* 和 *MsPYL8. 1* 的表达水平在轻度和中度干旱胁迫后显著上调,其中 *MsPYL4. 4* 在中度胁迫下上调了 1.52 倍, *MsPYL8. 1* 在轻度胁迫下上调了 1.73 倍。值得关注的是,它们均在重度胁迫下显著下调,说明重度干旱胁迫对大部分 *MsPYLs* 的基因表达水平有抑制作用。在 *MsPP2Cs* 家族中,有 6 个家族成员在干旱胁迫后差异表达,分别是 *MsPP2C10. 1/13. 2/23/25/66. 3/88. 4*。除 *MsPP2C88. 4* 和 *MsPP2C23* 显著下调外,其他 4 个 *MsPP2Cs* 均在干旱胁迫后显著上调,特别是 *MsPP2C10. 1* 在重度胁迫下上调了 15.46 倍。在 *MsSnRK2s* 家族中, *MsSnRK2-1. 2/3/14. 1/14. 2/14. 3* 在干旱胁迫后表达水平具有明显差异,其中 *MsSnRK2-1. 2/14. 1/14. 2/14. 3* 在干旱胁迫后表达水平持续上调,特别是 *MsSnRK2-14. 1* 在重度胁迫下上调了 3.29 倍。

## 2.7 *MsPP2Cs* 在干旱胁迫下 qRT-PCR 分析

为进一步确定 *MsPP2Cs* 基因在干旱胁迫下的表达模式,本研究选择了 4 个差异表达的 *MsPP2C* 基因进行 qRT-PCR 试验验证(图 13)。结果显示, *MsPP2C10. 1* 在  $D_2$  处理下开始上调; *MsPP2C25*、*MsPP2C66. 3* 和 *MsPP2C66. 4* 呈升高的趋势,与对照组相比分别上调了 2.88、1.90 和 1.91 倍;4 个 *MsPP2C* 基因都在  $D_3$  处理下表

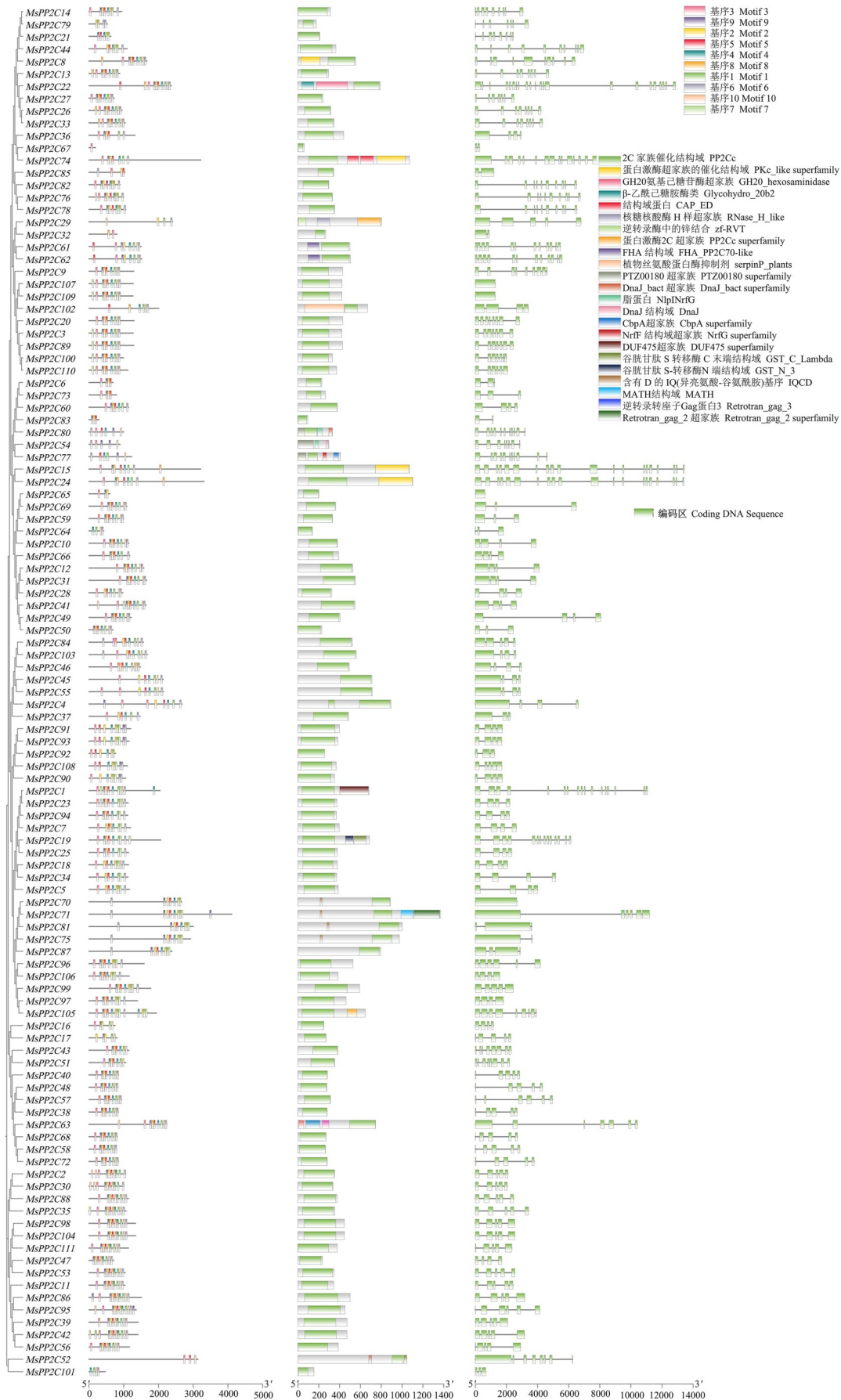
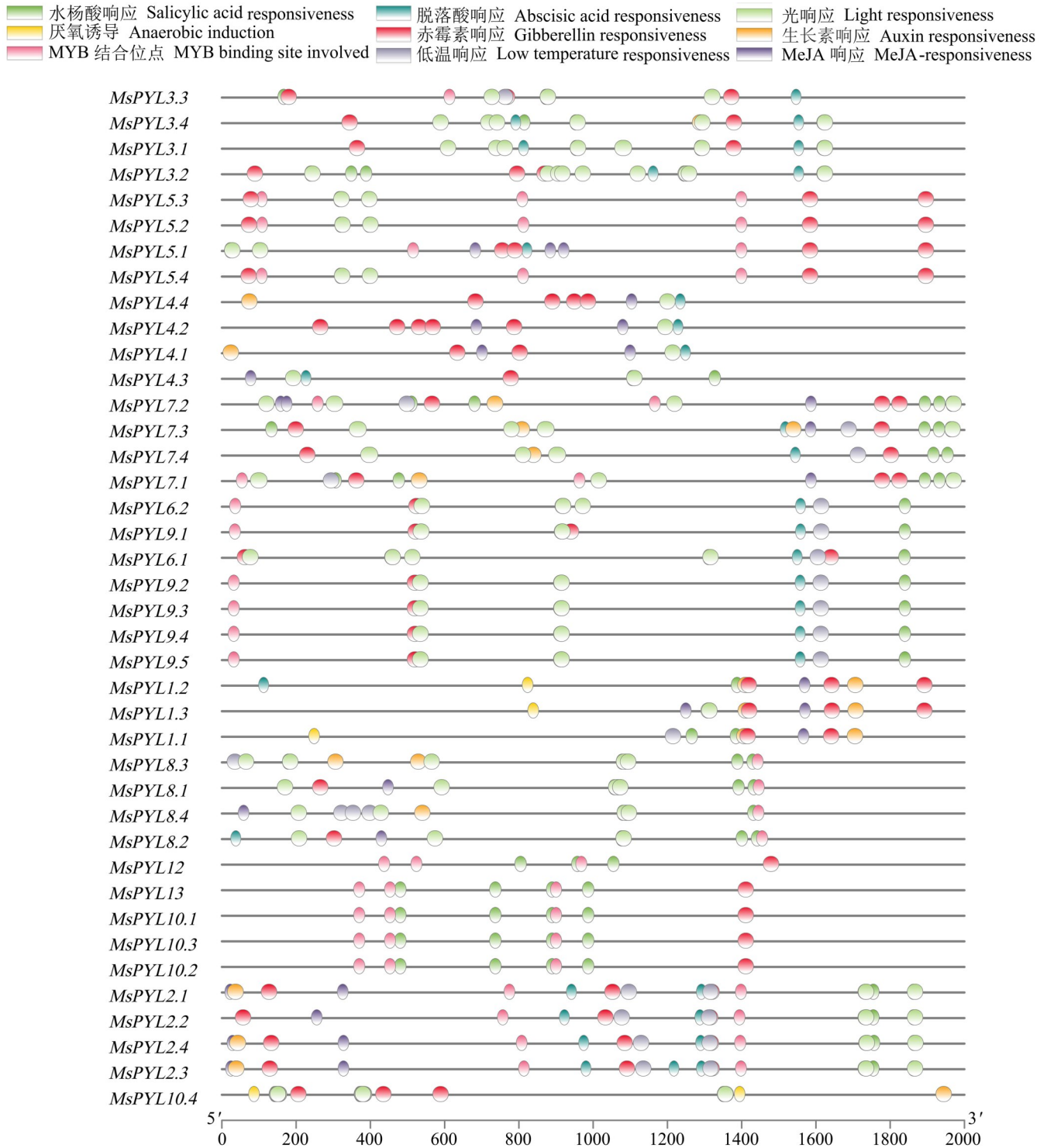


图7 PP2C 保守基序、保守结构域、基因结构分析

Fig. 7 PP2C conserved motifs, conserved structural domains, and gene structure analysis



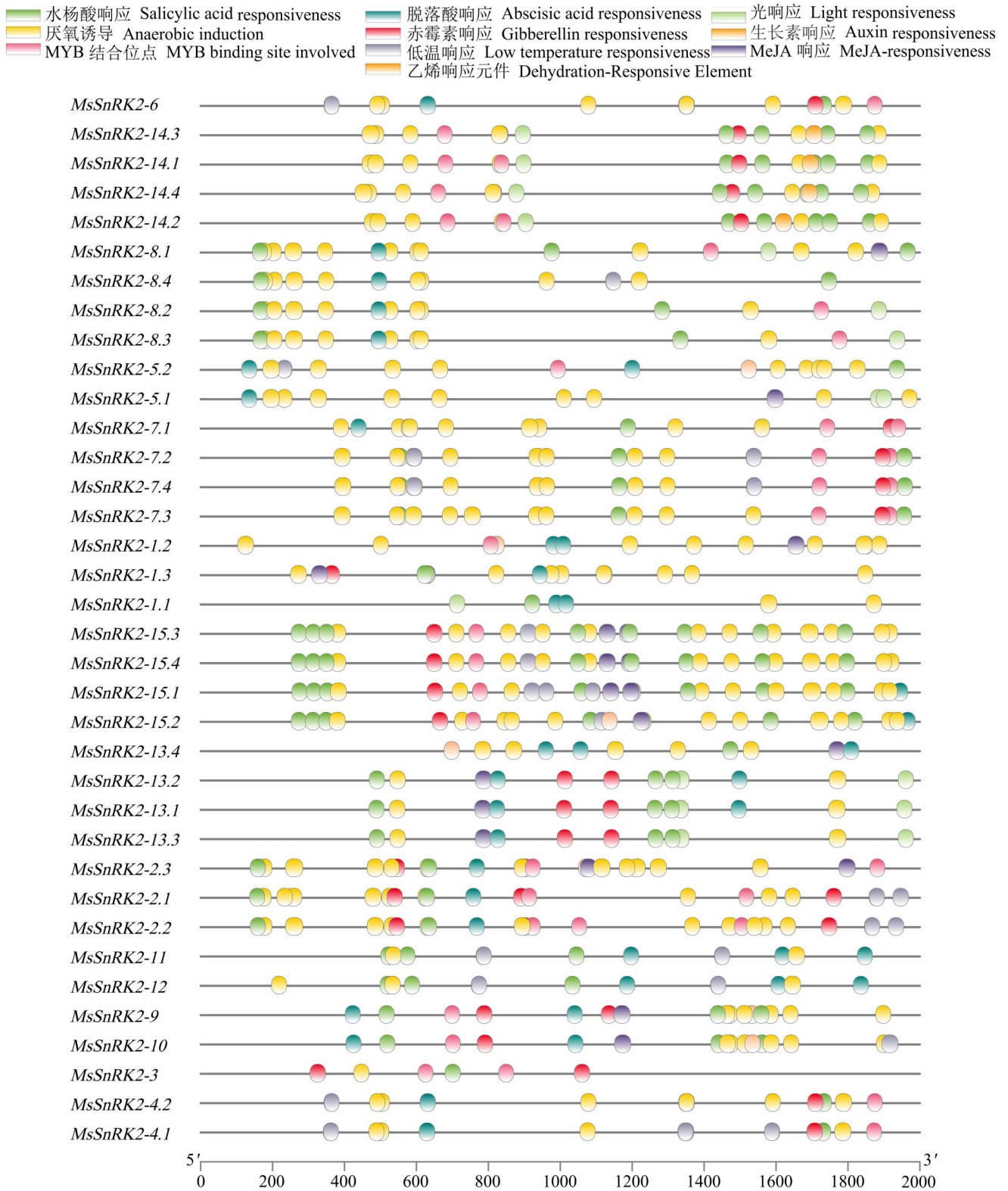
达量达到最大值。对比发现,qRT-PCR 试验结果与差异性分析结果一致,进一步确定了这些基因响应干旱胁迫。

### 2.8 关键调控基因的筛选

**2.8.1 基因共表达模块分析** 为了筛选 *MsPYLs*/*MsPP2Cs*/*MsSnRK2s* 家族成员中参与干旱胁迫下 ABA 信号转导途径的关键基因,本研究使用 WGCNA 分析了与干旱胁迫下 ABA 含量共表达的基因模块。结果显示(图



图 9 MsPP2C 顺式作用元件预测  
Fig. 9 Prediction of cis-acting elements in the promoters of MsPP2C genes



14), 238 个 *MsPYLs*/*MsPP2Cs*/*MsSnRK2s* 聚类为 2 个共表达模块, 其中“Turquoise”模块包含 57 个基因, “Blue”模块包含 30 个基因。相关性分析结果显示, “Turquoise”模块与 ABA 含量呈显著的正相关 ( $P < 0.05$ ), 相关性系数为 0.69, “Blue”模块与 ABA 含量呈负相关, 相关性系数为 0.53。

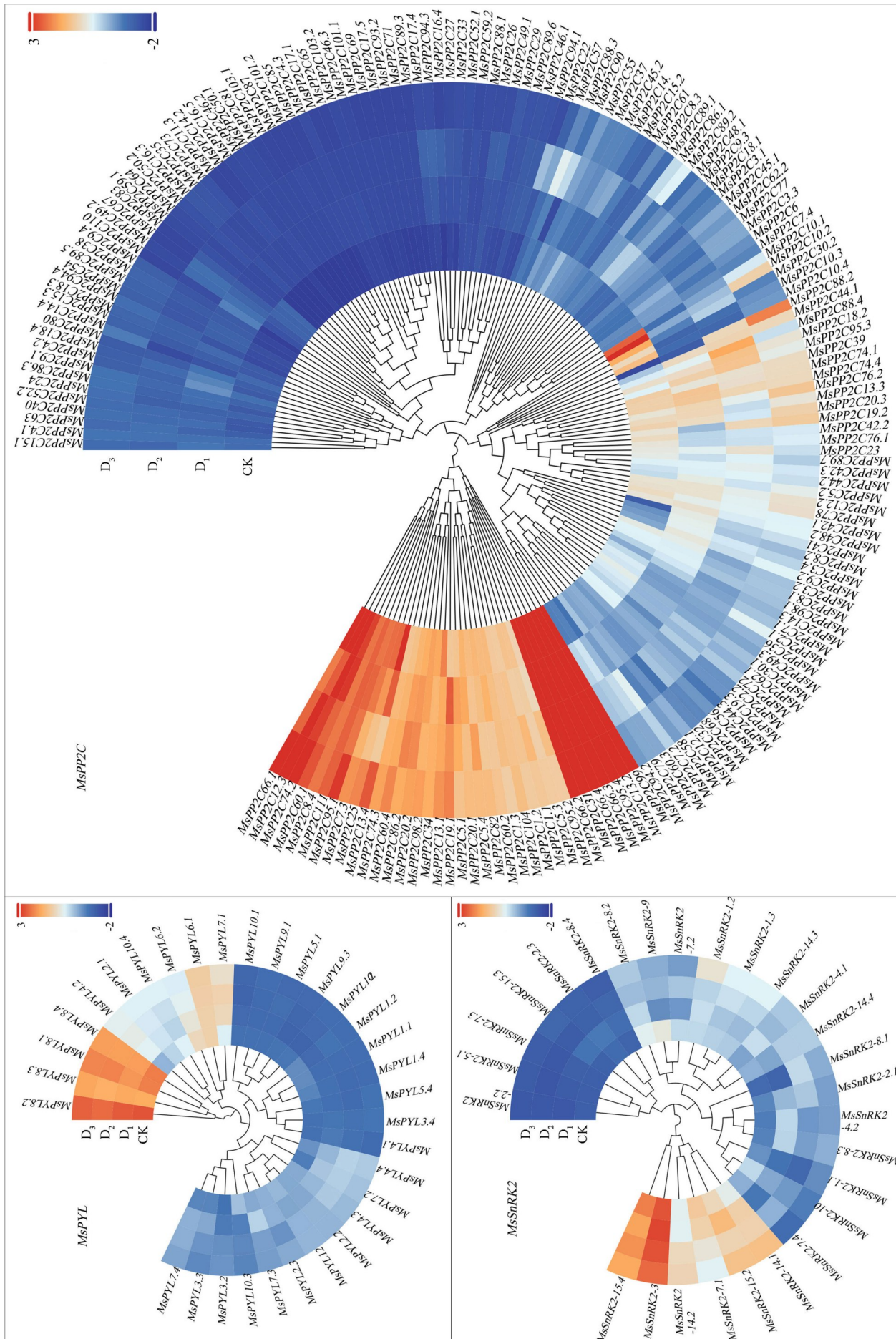


图 11 基因在干旱胁迫下的表达量  
Fig. 11 Gene expression under drought stress

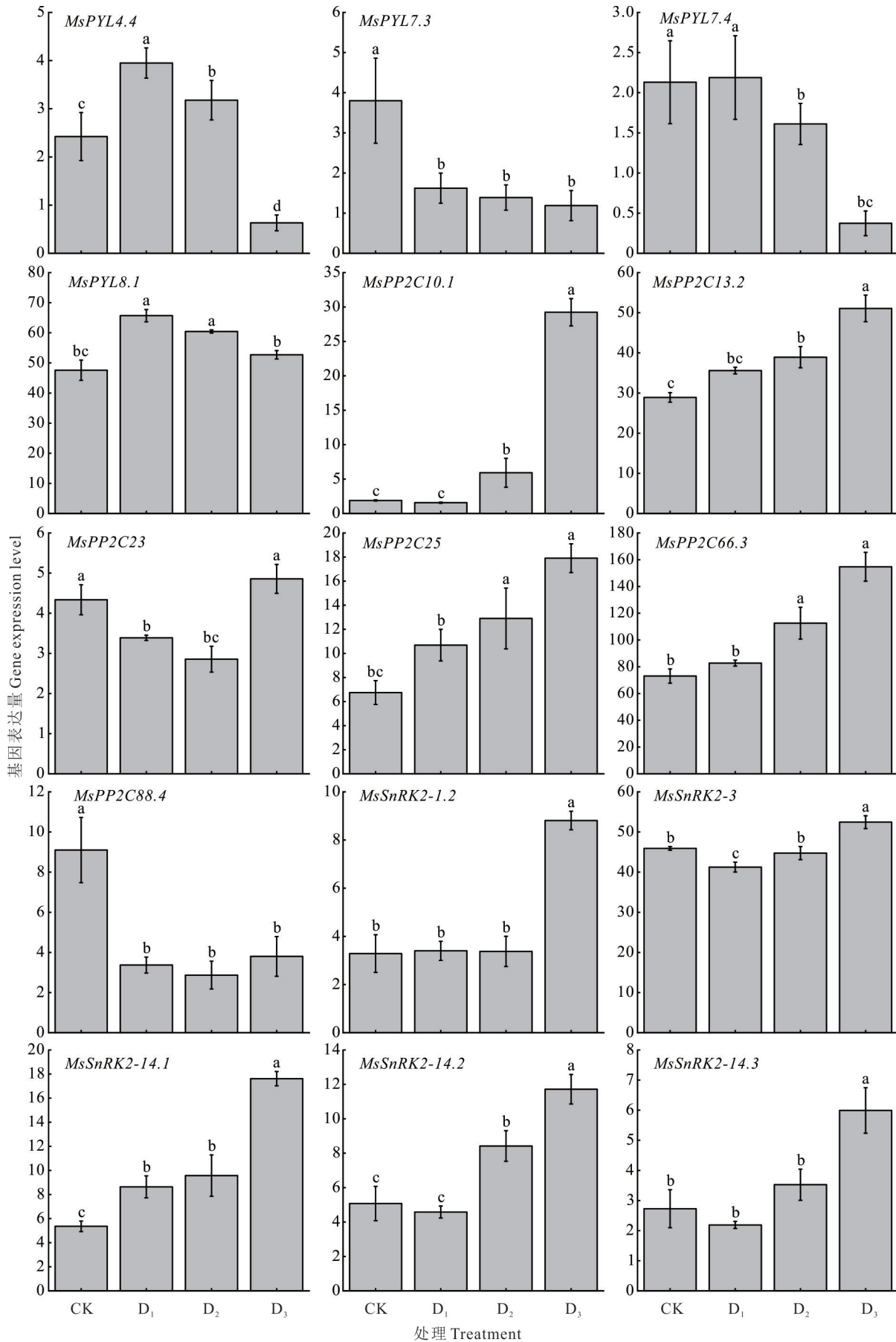


图 12 基因在干旱胁迫下的表达模式

Fig. 12 Gene expression pattern under drought stress

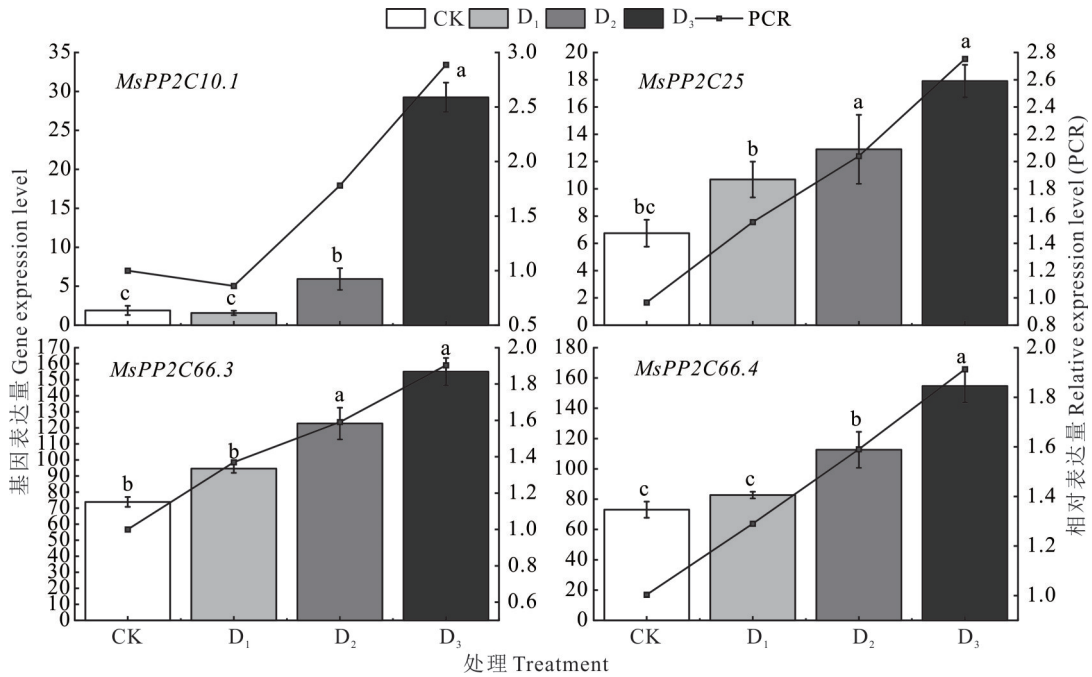


图 13 *MsPP2C* 基因响应干旱胁迫的表达模式

Fig. 13 Expression patterns of *MsPP2C* genes in response to drought stress

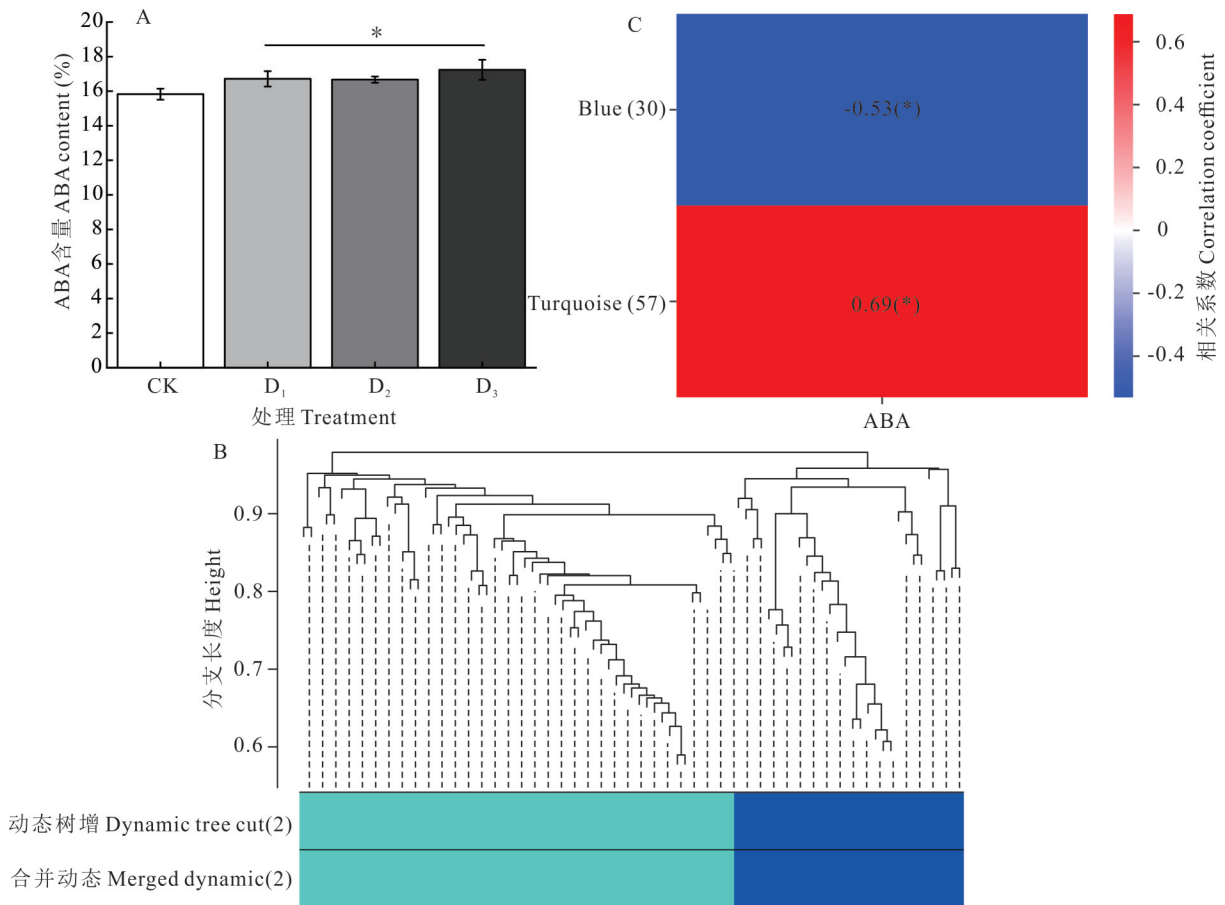


图 14 WGCNA 共表达模块分析

Fig. 14 Co-expression modules by weighted gene co-expression network analysis

\*表示在  $P < 0.05$  水平上差异显著; B 为共表达模块的聚类图; C 为共表达模块与 ABA 的相关性。\* indicates significant differences at the  $P < 0.05$  level; B is the clustering diagram of co-expression modules; C is the correlation between co-expression modules and ABA.

**2.8.2 GO 注释** 为了进一步探索正向参与 ABA 信号转导途径的核心基因,本研究对“Turquoise”模块中的基因做了GO注释和KEGG富集分析。结果显示(图 15),57 个基因主要参与蛋白质去磷酸化等过程,参与植物 MAPK 信号级联转导通路和植物激素信号转导通路。说明在干旱下上调表达的 *MsPYLs*/*MsPP2Cs*/*MsSnRK2s* 基因成员主要参与 ABA 信号转导途径。

**2.8.3 核心基因筛选** 在 Turquoise 模块中(图 16A),有 50 个基因被标记为 Hub 基因,包括 34 个 *MsPP2Cs*、3 个 *MsPYLs* 和 13 个 *MsSnRK2s* 基因,其中 *MsSnRK2-14.1/14.2/1.2* 和 *MsPP2C25* 在干旱胁迫下表达水平存在显著差异,可能是正向参与 ABA 信号转导的关键基因。在 Blue 模块中(图 16B),有 30 个基因被标记为 Hub 基因,包括 14 个 *MsPYLs*、10 个 *MsPP2Cs* 和 6 个 *MsSnRK2s* 基因,其中 *MsPYL7.3/7.4* 和 *MsPP2C88.4* 在干旱胁迫下表达水平存在显著差异,可能是负向参与 ABA 信号转导的关键基因。

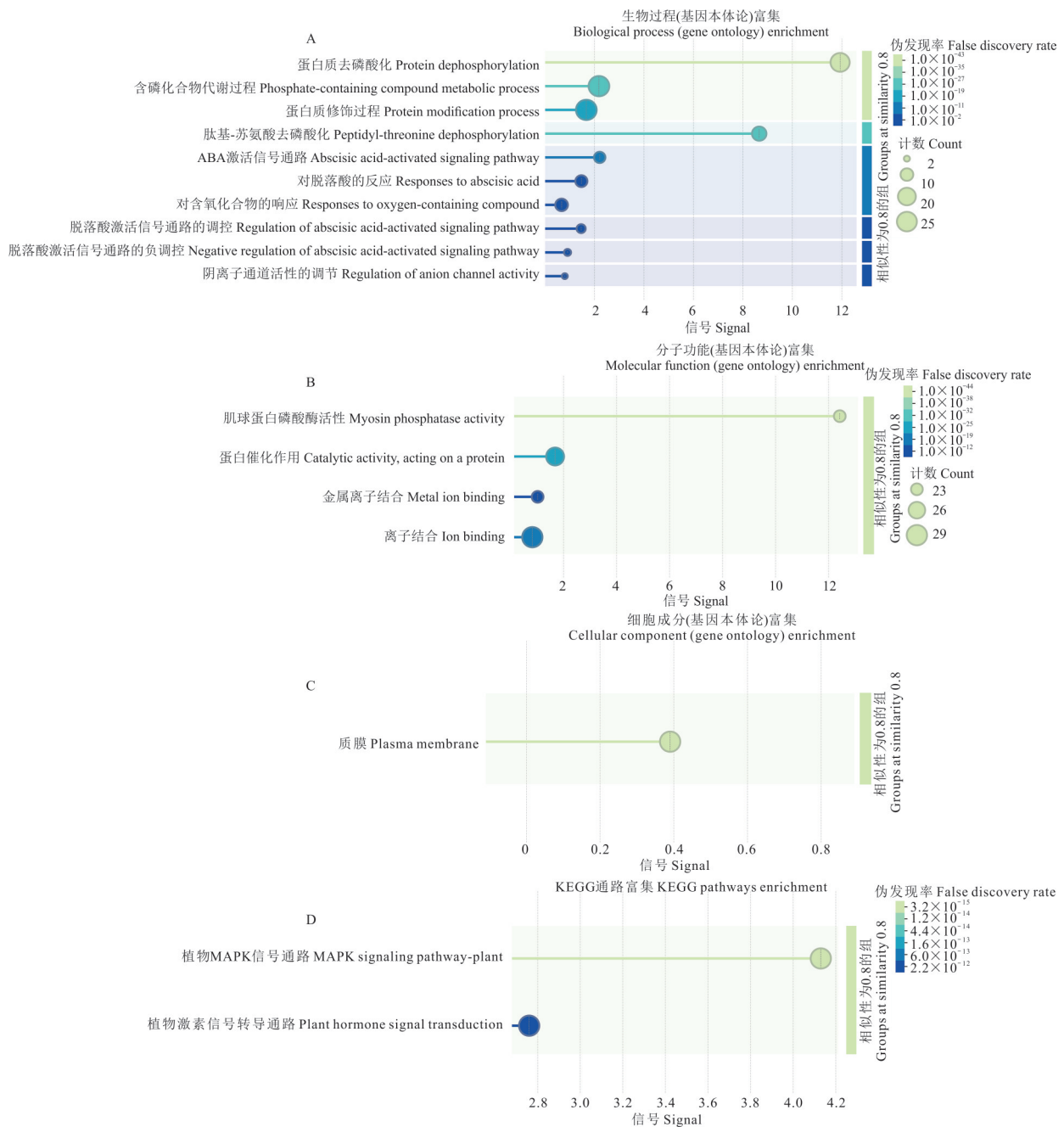


图 15 生物过程(A)、细胞成分(B)、分子功能(C)和 KEGG 富集(D)分析

Fig. 15 Biological processes(A), cellular components(B), molecular functions(C), KEGG enrichment(D)

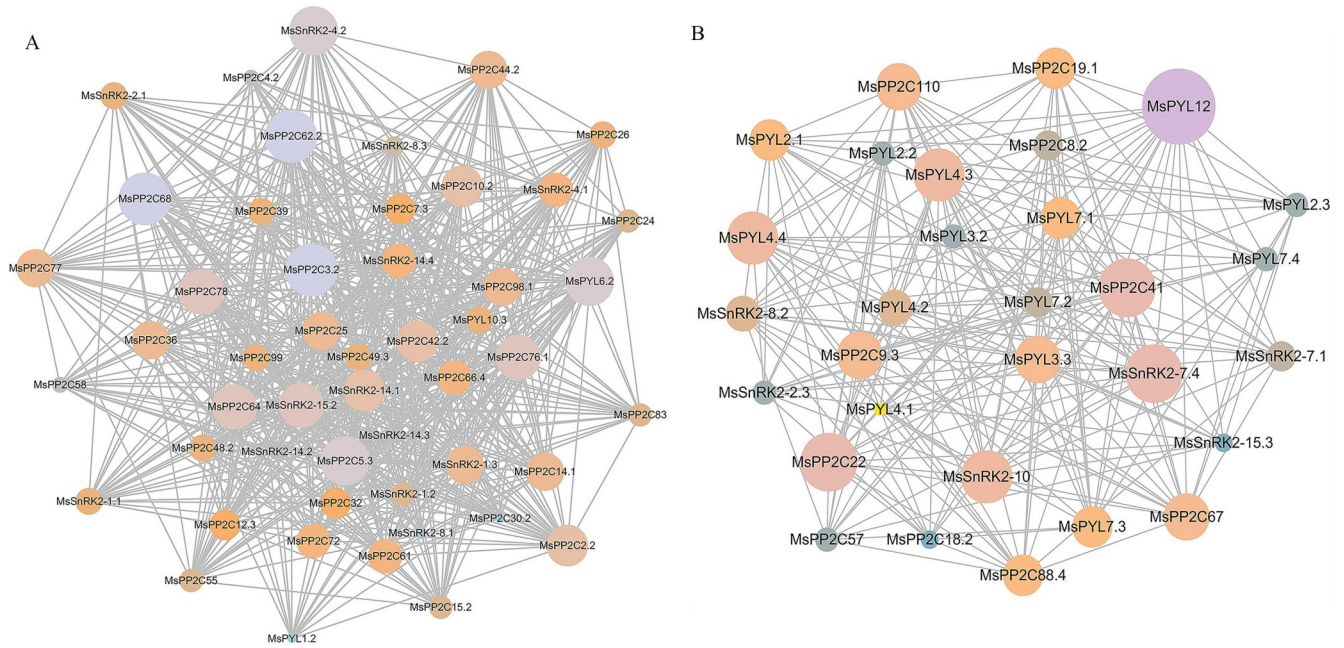


图 16 共表达 Turquoise(A)、Blue(B) 模块 Hub 基因网络

Fig. 16 WGCNA Turquoise (A), Blue (B) module Hub gene network

每个同心圆节点代表一个基因,节点同心圆越大表示该节点在整个网络中的贡献度越大。Each concentric circle node represents a specific gene, with larger nodes indicating greater contributions to the network.

## 2.9 分子对接

为了探索核心基因是否参与 ABA 信号转导,本研究对干旱胁迫下差异表达的 *MsPYL8.1*-*MsPP2C88.4*-*MsSnRK2-14.1* 进行了分子建模和对接分析。分子建模结果显示(图 17A~C),*MsPYL8.1* 为同源二聚体结构,*MsPP2C88.4* 和 *MsSnRK2-14.1* 为寡聚蛋白。*MsPYL8.1* 与 ABA 对接构象显示(图 17D,E),ABA 通过 190Phe、118Leu、194Ile 和 114Leu 残基与 ABA 形成稳定复合物,相互作用方式主要为  $\pi$ - $\pi$  堆积、疏水作用和范德华力,结合能为  $-32.292 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ ,表明结合构象稳定。然后使用 ABA 与 *MsPYL8.1* 聚合物(*MsPYL8.1*/ABA)与 *MsPP2C88.4* 进行分子对接,结果显示(图 17F),*MsPP2C88.4* 与 *MsPYL8.1*/ABA 主要以氢键作用结合,在作用界面发现 4 个氢键,涉及 8 个氨基酸残基。最后使用 *MsPYL8.1*/ABA-*MsPP2C88.4* 与 *MsPYL8.1* 进行对接,结果显示(图 17G),在 *MsPYL8.1*/ABA-*MsPP2C88.4*-*MsSnRK2-14.1* 三元复合体中,*MsSnRK2-14.1* 与 *MsPP2C88.4* 相互作用,*MsPYL8.1* 结构域位于 *MsSnRK2-14.1* 与 *MsPP2C88.4* 的作用界面。

## 3 讨论

*PYL-PP2C-SnRK2* 信号模块构成了植物 ABA 信号通路的中心网络,通过协调气孔关闭、渗透调节物质积累及胁迫响应基因表达等关键生理过程,在植物耐旱性调控中发挥核心作用。随着组学技术的崛起和生物信息学的发展,已在多种植物中完成了 *PYL-PP2C-SnRK2* 基因家族的鉴定,包括拟南芥<sup>[14]</sup>、水稻(*Oryza sativa*)<sup>[33]</sup>、大豆(*Glycine max*)<sup>[34]</sup> 和小麦<sup>[16]</sup> 等。拟南芥、玉米和水稻基因组中分别包含 14、13 和 13 个 *PYL* 基因,80、130 和 90 个 *PP2C* 基因,10、11 和 10 个 *SnRK2* 基因<sup>[14-15]</sup>。本研究发现,新疆大叶苜蓿基因组中包含 40 个 *PYL* 基因、216 个 *PP2C* 基因和 36 个 *SnRK2* 基因。说明 *PYL-PP2C-SnRK2* 基因家族成员的组成数量在双子叶植物和单子叶植物中均较为保守,表现为 *PP2C* 的成员数量远大于 *PYL* 和 *SnRK2* 家族,这在大部分植物中得到验证<sup>[34]</sup>。新疆大叶苜蓿中 *PYL-PP2C-SnRK2* 基因家族成员数量高于拟南芥等其他物种,这可能一方面与同源四倍体紫花苜蓿的全基因组复制事件有关,因为在六倍体小麦<sup>[16]</sup> 中发现了 26 个 *PYL* 基因。另一方面可能与紫花苜蓿基因组中存在的大片段重复有关,本研究在共线性分析中发现 *PYL-PP2C-SnRK2* 基因家族在非同源染色体上均存在大量的共线基因对。新疆大叶苜蓿庞大的基因家族规模提示其可能拥有更为复杂和精细的 ABA 信号调控网络,这可能是

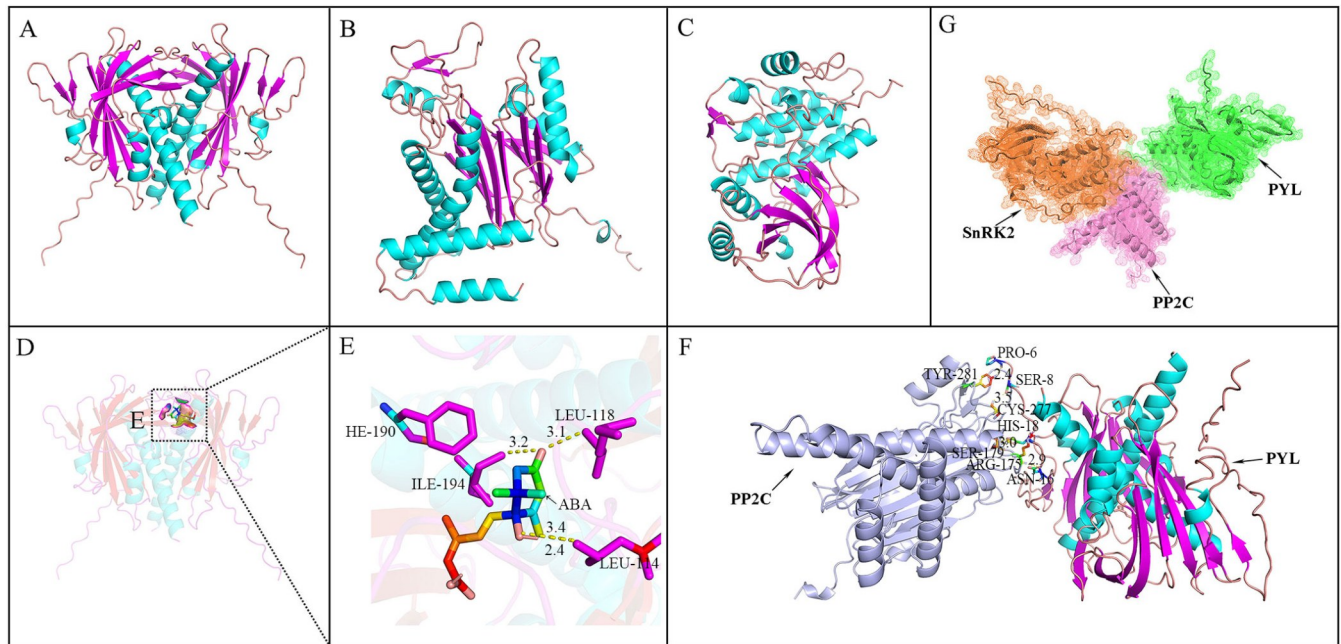


图 17 *MsPYL8.1*-*MsPP2C88.4*-*MsSnRK2-14.1* 分子建模与对接

Fig. 17 *MsPYL8.1*-*MsPP2C88.4*-*MsSnRK2-14.1* molecular modeling and docking

A、B、C 分别为 *MsPYL8.1*、*MsPP2C88.4*、*MsSnRK2-14.1* 与 ABA 对接结构图；D、E 为 *MsPYL8.1* 与 ABA 对接构象局部图；F 为 *MsPP2C88.4* 与 *MsPYL8.1*/ABA 对接结构图；G 为 *MsPYL8.1*/ABA-*MsPP2C88.4*-*MsSnRK2-14.1* 三元复合物。A, B, and C represent the ABA-binding structure diagrams of *MsPYL8.1*, *MsPP2C88.4*, and *MsSnRK2-14.1*, respectively; D and E depict the local conformation diagrams of *MsPYL8.1* interacting with ABA; F illustrates the structural diagram of *MsPP2C88.4* interacting with *MsPYL8.1*/ABA; G shows the ternary complex of *MsPYL8.1*/ABA-*MsPP2C88.4*-*MsSnRK2-14.1*.

其作为重要牧草具备较强环境适应性的遗传基础之一。因此,基因家族的大规模扩张为新疆大叶苜蓿构建复杂的 ABA 信号调控网络以应对多变干旱环境提供了重要的基因资源基础。

通过系统发育分析,将 *MsPYLs*、*MsPP2Cs* 和 *MsSnRK2s* 家族基因分为 3、13 和 3 个类群。在系统发育树中,同一分支的保守基序高度相似,表明同一组基因可能具有相似的功能。例如,拟南芥植物中的 *AtPYR1*、*AtPYL1*、*AtPYL2*、*AtPYL3* 都能促进 ABA 诱导的气孔关闭<sup>[14]</sup>。Motif 分析结果显示,不同亚家族之间的 Motif 种类和数量差异明显,这可能是导致它们功能不同的主要原因之一。所有 *MsPYLs* 基因都包含 PYR-PYL-RCAR-like 结构域,其中, PYR-PYL-RCAR-like 为 START 结构域超家族的成员,它的蛋白质折叠具有保守的配体结合模式<sup>[35]</sup>,其结构保守性确保了新疆大叶苜蓿在干旱胁迫下 ABA 信号的高效感知。作为 ABA 信号传导的核心组成部分,大多数 *MsPP2Cs* 基因都包含 PP2Cc 结构域<sup>[34]</sup>;PP2Cc 结构域在 ABA 信号传导中起关键作用,通过与 *PYL/RCAR* 结合并调控 *SnRK2* 激酶活性,参与植物生长发育和抗逆性的调节<sup>[11]</sup>。所有 *MsSnRK2s* 都包含 STKc 结构域,该结构域在应对高渗胁迫、高盐度和脱水发挥重要作用<sup>[34]</sup>。结合系统发育关系发现,在 *MsPYL-PP2C-SnRK2* 家族中聚类在同一亚族的家族成员具有相似数量的基因结构,不同亚族间基因结构差异明显,表明 *MsPYL-PP2C-SnRK2* 家族成员在维持核心功能结构域保守性的同时,通过亚族分化实现了功能的多样性,为响应复杂干旱胁迫提供了分子基础。

顺式作用元件在调控基因表达中发挥着重要作用,在揭示其潜在功能方面尤为重要。对 *MsPYL-PP2C-SnRK2s* 启动子的顺式作用元件分析表明,*MsPYL-PP2C-SnRK2s* 启动子区域包含许多与胁迫、生长发育、植物激素相关的顺式作用元件,其中所有 *MsPYLs*、*MsPP2Cs* 和 *MsSnRK2s* 基因都含有至少一个植物激素响应元件,植物激素信号是调控干旱或缺水反应的关键<sup>[13]</sup>。这一结果与拟南芥<sup>[18]</sup>、大豆<sup>[34]</sup>和白芨(*Bletilla striata*)<sup>[36]</sup>的研究结果相似。进一步分析发现,68%的 *MsPYLs* 基因、72%的 *MsPP2Cs* 基因和 70%的 *MsSnRK2s* 基因含有 ABA 相关调控元件 ABRE,这表明 *MsPYL-PP2C-SnRK2s* 家族基因参与 ABA 应答。值得注意的是,在 *MsSnRK2s* 中发现

了只存在于*MsSnRK2-14*中的一类特殊的元件DRE,DRE结合蛋白2A(DREB2A)通过ABA不依赖途径介导转录变化以获得抗逆性<sup>[11]</sup>。即*MsSnRK2-14*可能通过ABA不依赖的途径调控功能蛋白,包括mRNA衰变因子,调节转录稳定性,介导干旱胁迫下植物生长。这些激素响应元件,特别是高比例的ABRE和特异的DRE元件,从转录调控层面证实了*MsPYL-PP2C-SnRK2s*是新疆大叶苜蓿整合多种信号(尤其是ABA)以调控干旱响应的关键枢纽。

*SnRK2*是植物ABA响应的核心环节,其表达水平的上调能赋予植物对干旱胁迫的高耐受性。例如,在烟草(*Nicotiana tabacum*)中过表达甘蔗(*Saccharum officinarum*)*SoSnRK2.1*基因,显著增加了过表达植物对干旱胁迫的耐受性<sup>[37]</sup>。本研究发现,在干旱胁迫下*MsSnRK2-1.2/14.1/14.2/14.3*的表达水平显著上调,其中*MsSnRK2-14.1/14.2/1.2*在共表达模块中与ABA含量显著正相关,可能是*MsSnRK2*家族中响应干旱胁迫的关键基因。*PYL*是ABA信号通路中的正调控因子,在干旱胁迫下具有复杂的调控作用,在拟南芥和玉米中发现,*PYL*存在组织特异性表达,并且受到胁迫时长和胁迫程度的调控<sup>[38]</sup>。本研究发现*MsPYL4.4*和*MsPYL8.1*在轻度和中度干旱胁迫下表达水平显著上调,可能在新疆大叶苜蓿干旱胁迫下的信号转导过程中起关键作用。其余*MsPYLs*在叶片中的表达水平较低或不表达,推测它们可能存在时空特异性表达。研究发现,部分*PYL*亚型(如*PYL9/10*)在干旱早期快速表达,随后通过*PP2C*介导的去磷酸化下调*SnRK2*活性,触发泛素连接酶SDIRIP1降解*PYL*蛋白,构成ABA信号转导的负反馈调节系统以平衡信号敏感性<sup>[39]</sup>。因此,下调表达的*MsPYL7.3*、*MsPYL7.4*以及*MsPYL4.4*和*MsPYL8.1*在重度胁迫下的下调可能跟ABA信号转导的负反馈有关。*PP2C*在ABA信号转导过程中具有重要的枢纽作用。有研究发现,*PP2C*是干旱胁迫的负调控因子,抑制*PP2C*基因的表达有利于干旱胁迫下的ABA信号传导<sup>[7]</sup>。本研究发现,*MsPP2C88.4*和*MsPP2C23*在干旱胁迫后显著下调,提示*MsPP2C88.4*和*MsPP2C23*可能在ABA依赖性信号转导途径中发挥关键作用。另外有研究发现,一部分*PP2C*基因通过ABA非依赖性信号通路调节植物胁迫耐受性,例如来自水稻的*OsPPO21*<sup>[40]</sup>。在之前的研究中发现,紫花苜蓿根系中*PP2C*基因只有少数在干旱胁迫后下调,大部分被干旱胁迫诱导上调<sup>[41]</sup>。与之相似,本研究发现新疆大叶苜蓿叶片中*MsPP2C10.1/13.2/25/66.3*在干旱胁迫后表达水平持续上调,其中*MsPP2C25*是共表达模块中的核心基因,可能通过ABA非依赖性信号通路调控紫花苜蓿对干旱胁迫的响应过程。综上,本研究发现新疆大叶苜蓿虽然有较多的*MsPYL-PP2C-SnRK2s*基因家族成员,但是大部分在叶片中呈组成型表达或表达水平较低,只有少数参与了干旱胁迫下ABA的信号转导,包括*MsPYL4.4/7.3/7.4/8.1*、*MsPP2C10.1/13.2/23/25/66.3/88.4*和*MsSnRK2-1.2/3/14.1/14.2/14.3*,其中*MsSnRK2-14.1/14.2/1.2*和*MsPP2C88.4*在此过程中起核心作用。最后,本研究利用计算生物学方法辅助证明了差异表达的*MsPYL8.1*、*MsPP2C88.4*和*MsSnRK2-14.1*能够形成三元复合体,并且*MsSnRK2-14.1*的功能结构域位于与*MsPP2C88.4*的作用界面上,说明*MsPP2C88.4*能够去磷酸化*MsSnRK2-14.1*,完成干旱胁迫下的ABA信号转导过程。

#### 4 结论

本研究在新疆大叶苜蓿中发现40个*PYL*基因家族成员、216个*PP2C*基因家族成员和36个*SnRK2*基因家族成员,对它们的基本理化性质、系统进化关系、分布、基因结构和顺式作用元件进行了详细研究。在启动子区域发现了多个与胁迫反应和植物生长相关的顺式作用元件。在不同程度干旱胁迫下,新疆大叶苜蓿叶片*MsPYL-PP2C-SnRK2s*基因家族的表达模式存在明显差异。WGCNA筛选出与ABA含量显著相关的枢纽基因, (*MsPYL8.1*, *MsPP2C88.4*, *MsSnRK2-14.1*)。后续GO注释和KEGG富集分析、蛋白互作网络分析和分子对接,进一步证实了所筛选核心基因在植物生长发育、ABA信号转导以及逆境适应等方面的核心作用。本研究首次对新疆大叶苜蓿*PYL-PP2C-SnRK2s*进行了系统的生物信息学分析,为研究*MsPYL-PP2C-SnRK2s*基因的生物功能奠定了基础,揭示了新疆大叶苜蓿复杂ABA信号网络的干旱适应机制,为牧草抗旱遗传改良提供了关键靶基因及理论依据。

## 参考文献 References:

- [1] Arnell N W, Lowe J A, Challinor A J, *et al.* Global and regional impacts of climate change at different levels of global temperature increase. *Climatic Change*, 2019, 155(3): 377–391.
- [2] Chandregowda M H, Tjoelker M G, Power S A, *et al.* Drought and warming alter gross primary production allocation and reduce productivity in a widespread pasture grass. *Plant, Cell & Environment*, 2022, 45(8): 2271–2291.
- [3] Yao Z, Yu S M, Wang Q, *et al.* Water physiology and anatomical structure of *Medicago sativa* leaves in response to water stress. *Acta Agrestia Sinica*, 2025, 33(3): 823–830.  
姚泽, 于思敏, 王祺, 等. 紫花苜蓿叶片水分生理及其解剖结构的水分胁迫响应. *草地学报*, 2025, 33(3): 823–830.
- [4] Kapoor D, Bhardwaj S, Landi M, *et al.* The impact of drought in plant metabolism: How to exploit tolerance mechanisms to increase crop production. *Applied Sciences*, 2020, 10(16): 5692.
- [5] Muhammad A M, Waseem M, Jakada B H, *et al.* Mechanisms of abscisic acid-mediated drought stress responses in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(3): 1084.
- [6] Tripathy S K, Nayak G, Naik J, *et al.* Signal transduction in plants under drought and salt stress—an overview. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2019, 8(8): 318–325.
- [7] Brookbank B P, Jasmin P, Sonia G, *et al.* Role of basal ABA in plant growth and development. *Genes*, 2021, 12(12): 1936.
- [8] Zhang Y, Xu J, Li R F, *et al.* Plants' response to abiotic stress: mechanisms and strategies. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(13): 10915.
- [9] Mukarram M, Choudhary S, Kurjak D, *et al.* Drought: Sensing, signalling, effects and tolerance in higher plants. *Physiologia Plantarum*, 2021, 172(2): 1291–1300.
- [10] Danquah A, De Zelicourt A, Colcombet J, *et al.* The role of ABA and MAPK signaling pathways in plant abiotic stress responses. *Biotechnology Advances*, 2014, 32(1): 40–52.
- [11] Fumiyuki S, Fuminori T, Kazuko Y, *et al.* Cellular phosphorylation signaling and gene expression in drought stress responses: ABA-dependent and ABA-independent regulatory systems. *Plants*, 2021, 10(4): 756.
- [12] Li X. Systematic identification of phytohormone-binding proteins and functional characterization. Beijing: China Academy of Chinese Medical Science, 2023.  
李欣. 植物激素结合蛋白的系统鉴定及功能研究. 北京: 中国中医科学院大学, 2023.
- [13] Justyna F, Jakub G, Marta G, *et al.* PYR/PYL/RCAR receptors play a vital role in the abscisic-acid-dependent responses of plants to external or internal stimuli. *Cells*, 2022, 11(8): 1352.
- [14] Dittrich M, Mueller H M, Bauer H, *et al.* The role of *Arabidopsis* ABA receptors from the PYR/PYL/RCAR family in stomatal acclimation and closure signal integration. *Nature Plants*, 2019, 5(9): 1002–1011.
- [15] Wu H, Zhu L, Cai G P, *et al.* Genome-wide identification and characterization of the PP2C family from *Zea mays* and its role in long-distance signaling. *Plants*, 2023, 12(17): 3153.
- [16] Xu C, Jing R, Mao X, *et al.* A wheat (*Triticum aestivum*) protein phosphatase 2A catalytic subunit gene provides enhanced drought tolerance in tobacco. *Annals of Botany*, 2007, 99(3): 439–450.
- [17] Yu X, Han J, Li L, *et al.* Wheat PP2C-*a10* regulates seed germination and drought tolerance in transgenic *Arabidopsis*. *Plant Cell Reports*, 2020, 39: 635–651.
- [18] Xue T, Wang D, Zhang S, *et al.* Genome-wide and expression analysis of protein phosphatase 2C in rice and *Arabidopsis*. *BMC Genomics*, 2008, 9: 1–21.
- [19] Chen C J, Bao M F, Wang W H, *et al.* Current situation and prospects for drought-resistance breeding in *Medicago sativa*. *Acta Prataculturae Sinica*, 2025, 34(3): 204–223.  
陈彩锦, 包明芳, 王文虎, 等. 紫花苜蓿抗旱育种研究现状及展望. *草业学报*, 2025, 34(3): 204–223.
- [20] Li Y, Li Z S, Miao L H, *et al.* Effects of drought stress at different growth stages on growth and root ABA content of alfalfa. *Acta Agrestia Sinica*, 2017, 25(6): 1245–1250.  
李跃, 李振松, 苗丽宏, 等. 不同生育期干旱对紫花苜蓿生长和根系 ABA 含量的影响. *草地学报*, 2017, 25(6): 1245–1250.
- [21] Qiu Y D, Luo Y Z, Qi J W, *et al.* Identification of the whole CNGC gene family in alfalfa and analysis of its regulatory patterns under drought stress. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2025, 43(1): 54–68, 116.  
邱应德, 罗永忠, 齐建伟, 等. 紫花苜蓿 CNGC 基因家族全基因组鉴定及干旱胁迫下的调控模式分析. *干旱地区农业研究*, 2025, 43(1): 54–68, 116.

- [22] Qi J W, Luo Y Z, Lu S S, *et al.* Multi-omics integration analysis reveals the molecular mechanisms of drought adaptation in homologous tetraploid alfalfa (*Medicago sativa* ‘Xinjiang-Daye’). *Physiologia Plantarum*, 2024, 176(5): e14476.
- [23] Duvaud S, Gabella C, Lisacek F, *et al.* ExPASY, the swiss bioinformatics resource portal, as designed by its users. *Nucleic Acids Research*, 2021, 49(W1): W216–W227.
- [24] Horton P, Park K J, Obayashi T, *et al.* WoLF PSORT: Protein localization predictor. *Nucleic Acids Research*, 2007, 35(suppl\_2): W585–W587.
- [25] Chen C, Wu Y, Li J, *et al.* TBtools-II: A “one for all, all for one” bioinformatics platform for biological big-data mining. *Molecular Plant*, 2023, 16(11): 1733–1742.
- [26] Letunic I, Bork P. Interactive tree of life (iTOL) v6: Recent updates to the phylogenetic tree display and annotation tool. *Nucleic Acids Research*, 2024, 52(W1): W78–W82.
- [27] Lescot M, Déhais P, Thijs G, *et al.* Plant CARE, a database of plant *cis*-acting regulatory elements and a portal to tools for in silico analysis of promoter sequences. *Nucleic Acids Research*, 2002, 30(1): 325–327.
- [28] Szklarczyk D, Gable A L, Nastou K C, *et al.* The STRING database in 2021: Customizable protein-protein networks, and functional characterization of user-uploaded gene/measurement sets. *Nucleic Acids Research*, 2021, 49(D1): D605–D612.
- [29] Yan Y, Tao H, He J, *et al.* The HDock server for integrated protein-protein docking. *Nature Protocols*, 2020, 15(5): 1829–1852.
- [30] Madeira F, Pearce M, Tivey A R N, *et al.* Search and sequence analysis tools services from EMBL-EBI in 2022. *Nucleic Acids Research*, 2022, 50(W1): W276–W279.
- [31] Pertea M, Kim D, Pertea G M, *et al.* Transcript-level expression analysis of RNA-seq experiments with HISAT, StringTie and Ballgown. *Nature Protocols*, 2016, 11(9): 1650–1667.
- [32] Min X, Liu Z, Wang Y, *et al.* Comparative transcriptomic analysis provides insights into the coordinated mechanisms of leaves and roots response to cold stress in common vetch. *Industrial Crops and Products*, 2020, 158: 112949.
- [33] Yadav K S, Kumar S V V, Verma K R, *et al.* Genome-wide identification and characterization of ABA receptor *PYL* gene family in rice. *BMC Genomics*, 2020, 21(1): 676.
- [34] Zhang Z H, Ali S, Zhang T X, *et al.* Identification, evolutionary and expression analysis of *PYL-PP2C-SnRK2s* gene families in soybean. *Plants*, 2020, 9(10): 1356.
- [35] Ng L M, Melcher K, Teh B T, *et al.* Abscisic acid perception and signaling: structural mechanisms and applications. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2014, 35(5): 567–584.
- [36] Liu S, Lu C, Jiang G, *et al.* Comprehensive functional analysis of the *PYL-PP2C-SnRK2s* family in *Bletilla striata* reveals that *BsPP2C22* and *BsPP2C38* interact with *BsPYLs* and *BsSnRK2s* in response to multiple abiotic stresses. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 963069.
- [37] Phan T T, Sun B, Niu J Q, *et al.* Overexpression of sugarcane gene *SoSnRK2.1* confers drought tolerance in transgenic tobacco. *Plant Cell Reports*, 2016, 35: 1891–1905.
- [38] Fan W, Zhao M, Li S, *et al.* Contrasting transcriptional responses of *PYR1/PYL/RCAR* ABA receptors to ABA or dehydration stress between maize seedling leaves and roots. *BMC Plant Biology*, 2016, 16: 1–14.
- [39] Kou H, Zhang X, Jia J, *et al.* Research progress in the regulation of the ABA signaling pathway by E3 ubiquitin ligases in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25(13): 7120.
- [40] You J, Zong W, Hu H, *et al.* A stress-responsive NAC1-regulated protein phosphatase gene rice protein phosphatase18 modulates drought and oxidative stress tolerance through abscisic acid-independent reactive oxygen species scavenging in rice. *Plant Physiology*, 2014, 166(4): 2100–2114.
- [41] Wan L, Li Y, Li S, *et al.* Transcriptomic profiling revealed genes involved in response to drought stress in alfalfa. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2022, 41(1): 92–112.