生物技术通报
· 研究报告 · BIOTECHNOLOGY BULLETIN 2026, 42(10):238-249

丹参*RBOH*基因家族特征及盐胁迫响应分析

李贺勤[1, 2, 3] 闫恒宇[1] 袁语锌[1] 段炎炎[1] 李彩丽[4] 单成钢[5] 江绪文[1, 2, 3*]

（1.青岛农业大学农学院,青岛 230036; 2.盐碱地综合利用国家技术创新中心,东营 257347; 3.黄河三角洲盐碱地农业研究院,东营 257347; 4.中国医学科学院药用植物研究所,北京 100193; 5.山东省农业科学院经济作物研究所,济南 250100）

摘 要： 【目的】呼吸爆发氧化酶同源物（respiratory burst oxidase homologs, RBOHs）是植物活性氧（ROS）生成的关键限速酶，广泛参与植物逆境胁迫的调控过程。探究丹参*RBOHs*基因在盐胁迫应答及活性成分积累中的调控特征，为深入解析*SmRBOHs*基因功能、阐明其调控丹参活性成分积累的分子机制提供理论支撑。【方法】以拟南芥RBOH蛋白序列为参考，系统鉴定丹参*RBOHs*基因家族成员，全面解析其序列特征、进化关系、启动子顺式作用元件与转录因子结合位点，并构建其蛋白互作调控网络；结合转录组数据筛选与丹参活性成分生物合成通路基因共表达的*SmRBOHs*。通过盐胁迫处理试验，利用RT-qPCR等技术，系统分析*SmRBOHs*表达模式与ROS含量、丹酚酸和丹参酮积累的相关性。【结果】从丹参基因组中鉴定到6个*SmRBOHs*，系统进化分析可将其划分为3个亚组，其基因启动子区富含盐胁迫、脱落酸（abscisic acid, ABA）等逆境响应顺式元件和转录因子结合位点。该家族基因具有组织表达特异性，可差异化响应ABA信号，且与丹酚酸、丹参酮合成通路基因存在共表达关系。盐胁迫下，*SmRBOHs*各成员表达模式分化明显，其中*SmRBOH2*表达量与H_2O_2、丹参酮含量呈负相关，与丹酚酸积累呈正相关，其余家族成员则呈相反变化趋势。【结论】丹参*RBOHs*广泛参与植物激素介导的生理调控与盐胁迫应答过程，且其转录表达受多类转录因子调控。丹参或可通过ABA介导的SnRK2-RBOH信号模块，差异化调控丹酚酸与丹参酮的生物合成，进而参与盐胁迫适应性应答。

关键词： 丹参；*RBOH*基因家族；盐胁迫；表达模式；丹酚酸；丹参酮；H_2O_2；相关分析

DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2026-0593

Characterization of the *RBOH* Gene Family and Analysis of Its Salt Stress Responses in *Salvia miltiorrhiza*

LI He-qin[1, 2, 3] YAN Heng-yu[1] YUAN Yu-xin[1] DUAN Yan-yan[1] LI Cai-li[4] SHAN Cheng-gang[5] JIANG Xu-wen[1, 2, 3*]

（1. *College of Agriculture, Qingdao Agricultural University, Qingdao* 230036; 2. *National Technology Innovation Center for Saline-Alkali Agriculture, Dongying* 257347; 3. *Yellow River Delta Research Institute of Saline-Alkaliland Agriculture, Dongying* 257347; 4. *Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing* 100193; 5. *Institute of Industrial Crops, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan* 250100）

Abstract: 【Objective】 Respiratory burst oxidase homologs (RBOHs) are key rate-limiting enzymes that generate reactive oxygen species (ROS) in plants and play critical roles in stress responses. This study aims to investigate the regulatory characteristics of *SmRBOHs* under salt stress and their effects on active ingredient accumulation, thereby providing a theoretical basis for further functional analysis of *SmRBOHs* and for elucidating the molecular mechanisms underlying active component accumulation in *Salvia miltiorrhiza*. 【Method】 Using *Arabidopsis thaliana* RBOH protein sequences as a reference, we systematically identified members of the *SmRBOH* gene family, comprehensively analyzed their sequence characteristics, evolutionary relationships, and promoter *cis*-elements and transcription factor binding sites, and constructed a protein-protein interaction network. Transcriptome data were then used to screen for *SmRBOHs* co-expressed with genes involved

收稿日期：2026-05-26

基金项目：青岛市科技局创新源头计划项目（19-6-2-36-cg），山东省中草药产业技术体系建设项目（SDAIT-20），生境种植园建设项目（横20250192），黄河三角洲盐碱地研究院专项（1126001）

*通信作者：江绪文 mjxw888@163.com

in the biosynthetic pathways of salvianolic acids and tanshinones. Under salt stress treatments, real-time quantitative PCR (RT-qPCR) and other techniques were applied to analyze the correlations between *SmRBOH* expression levels, ROS content, and the accumulation of salvianolic acids and tanshinones.【Result】A total of six *SmRBOHs* were identified and classified into three subgroups based on phylogenetic analysis. Their promoter regions contained abundant *cis*-elements associated with abiotic stresses such as salt stress and abscisic acid (ABA), as well as transcription factor binding sites. The *SmRBOHs* exhibited tissue-specific expression patterns and differential responses to ABA. Additionally, these genes were co-expressed with key genes involved in the biosynthetic pathways of salvianolic acids and tanshinones. Under salt stress, the *SmRBOH* members displayed distinct expression patterns. Among them, *SmRBOH2* expression was negatively correlated with H_2O_2 and tanshinone contents, but positively correlated with salvianolic acid accumulation. The other members showed opposite trends.【Conclusion】*SmRBOHs* are widely involved in hormone-mediated physiological regulation and salt stress responses in *S. miltiorrhiza*, and their transcriptional expression is modulated by various transcription factors. *S. miltiorrhiza* may regulate the biosynthesis of salvianolic acids and tanshinones through the ABA-mediated SnRK2-RBOH signaling module, thereby participating in adaptive responses to salt stress.

Keywords: *Salvia miltiorrhiza*; *RBOH* gene family; salt stress; expression pattern; salvianolic acids; tanshinones; H_2O_2; correlation analysis

活性氧（reactive oxygen species, ROS）是植物体内调控生长发育与逆境响应的核心信号分子，主要包括超氧阴离子（O_2^-）、过氧化氢（H_2O_2）、羟基自由基（·OH）和单线态氧（$^1O_2$），具有显著的浓度依赖性双重功能[1]。正常生理条件下，低浓度的ROS可作为关键信号分子，介导植物生长发育和胁迫适应；而盐碱、干旱等逆境胁迫会打破ROS生成与清除的稳态平衡，造成ROS过量累积，引发脂质过氧化、核酸与蛋白质损伤等氧化毒害，抑制植株生长[1-3]。呼吸爆发氧化酶同源物（respiratory burst oxidase homologs, RBOHs）是调控ROS产生的关键因子，广泛参与植物生长发育和抗逆响应[4]，是当前植物逆境分子生物学的研究热点。

丹参（*Salvia miltiorrhiza* Bunge）为唇形科多年生草本植物，以干燥根及根茎入药，是我国传统大宗中药材。2025年版《中国药典》载明该药可活血祛瘀、通经止痛、清心除烦、凉血消痈，临床多用于冠心病、心脑血管疾病及慢性肾病的防治[5]。苯丙素类的丹酚酸B和二萜类的丹参酮I、隐丹参酮和丹参酮IIA是丹参的核心药效成分，直接决定药材品质与市场价值[6]。随着中医药产业国际化发展，丹参的市场需求持续增长。我国耕地资源有限，盐碱地作为重要后备耕地资源，总面积达9 913万hm^2[7]。盐碱胁迫会引起离子毒害、渗透胁迫和氧化损伤等，抑制中药材正常生长[8]，但也能改变其次生代谢途径，促进酚类、黄酮、生物碱等药效成分的合成与积累，从而提升药材品质[9]。科学开展盐碱地中药材种植，可在严守粮食安全底线的前提下充分挖掘后备盐碱地的农业利用价值，推动特色中药材产业提质增效、绿色发展。因此，深入研究盐碱胁迫下丹参抗逆适应与品质形成的分子机制，可为盐碱地丹参规范化栽培、盐碱资源绿色高效利用提供理论支撑，兼具重要的科学理论价值与产业实践意义。

近年来，大量研究证实*RBOH*家族基因通过介导ROS信号通路广泛参与农作物和园艺植物的生长发育和胁迫应答。水稻（*Oryza sativa* L.）中多个*RBOH*基因可调控植株生长及其抗旱、耐热及重金属胁迫响应[10-12]；黄瓜（*Cucumis sativus* L.）、南瓜（*Cucurbita moschata*）等作物*RBOH*家族成员正向调控耐盐、耐寒性[13-14]；梨（*Pyrus bretschneideri*）、莴苣（*Lactuca sativa*）、棉花（*Gossypium hirsutum* L.）等植物的*RBOH*基因参与生殖发育、种子萌发与抗病防御[15-17]。丹参相关研究表明，其可耐受轻、中度盐碱胁迫，盐胁迫对其生长发育与次生代谢具有双向调控作用[18-19]，且丹参在黄河三角洲盐碱地的规模化栽培技术已完成初步探索与应用[20-21]，为盐碱地丹参产业化种植奠定了基础。但药用植物*RBOH*家族功能研究仍较为薄弱。丹参*RBOH*家族基因的特征与功能尚不明确，丹参如何通过*RBOH*介导ROS信号通路、协同调控盐胁迫响应及活性成分积累的分子机制尚未解析，制约了丹参抗逆分子育种与优质栽培机制的深入研究。

本研究以丹参为研究对象，基于现有基因组数

据开展*SmRBOHs*基因的全基因组鉴定，并结合转录组数据与RT-qPCR技术探究该家族基因在盐胁迫下的表达模式及其与ROS代谢、丹酚酸及丹参酮积累的关联，以期为揭示丹参*RBOHs*基因功能、阐明其在丹参活性成分积累中的调控机制提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料

丹参（*S. miltiorrhiza*）种子（安国市农泰中药材种植有限公司）、营养土（寿光益先都农业科技有限公司）、氯化钠（天津市巴斯夫化工有限公司）；Trelief®RNAprep Pure Plant Plus总RNA试剂盒（富含多糖和多酚）、SynScript®III RT SuperMix for qPCR反转录试剂盒和ArtiCan^{CEO} SYBR qPCR Mix荧光定量PCR试剂盒由北京擎科生物科技股份有限公司提供。仪器包括QuantStudio™ 1 Plus实时荧光定量PCR仪（Applied Biosystems）、高效液相色谱仪（1260 Infinity II3030623, Agilent, USA）和Amethyst C_{18}-H柱（250 mm×4.6 mm，粒径5 μm）。

1.2 方法

1.2.1 *SmRBOHs*鉴定与理化性质分析 通过TBtools-II软件的BLAST同源比对[22]，将拟南芥（*Arabidopsis thaliana* L.）RBOH蛋白序列（源于Phytozome数据库，https://phytozome-next.jgi.doe.gov/）与国家基因组科学数据中心（NGDC，https://ngdc.cncb.ac.cn/）的丹参基因组数据库DSS3 v1.0进行序列比对[23]，筛选SmRBOH候选蛋白序列。使用NCBI CDD在线工具（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi）进行保守结构域鉴定，确认目标蛋白。随后，利用ExPASy在线工具（https://web.expasy.org/protparam/）分析SmRBOH蛋白的基本理化特征，包括蛋白质长度、分子量、等电点和疏水性总平均值。最后，通过WoLF PSORT在线工具（https://wolfpsort.hgc.jp/）预测SmRBOH蛋白的亚细胞定位。

1.2.2 *SmRBOH*基因家族保守基序与基因结构分析 通过MEME在线网站（https://meme-suite.org/meme/）对SmRBOH蛋白序列进行保守基序分析，参数设置如下：序列位点分布模式设为0或1，基序宽度范围为6-50个氨基酸，其余参数采用默认设置；保守基序结果使用TBtools-II软件进行可视化[22]。基因结构的注释与可视化则利用GSDS 2.0在线工具（https：//gsds.gao-lab.org/）完成。

1.2.3 SmRBOHs系统发育树分析 采用MEGA 5.1软件的最大似然法（maximum likelihood estimate, MLE），基于番茄（*Solanum lycopersicum* L.）、拟南芥、水稻（*Oryza sativa* L.）、墨西哥鼠尾草（*Salvia divinorum* L.）和黄芩（*Scutellaria baicalensis* Georgi）的RBOH蛋白序列（源于NCBI数据库、Phytozome数据库和NGDC数据库）以及SmRBOH蛋白序列，构建系统发育树。最终，通过iTOL在线网站（https://itol.embl.de/）对进化树进行美化与可视化处理。

1.2.4 *SmRBOHs*启动子顺式作用元件和转录结合位点分析 提取*SmRBOHs*起始密码子上游1 500 bp的启动子序列，使用PlantCARE在线工具（http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/）进行顺式作用元件预测。随后，利用TBtools-II软件对结果进行可视化[22]。此外，通过PlantRegMap在线分析平台（http://plantregmap.gao-lab.org/）鉴定启动子区域的转录因子结合位点（筛选阈值设为*P*-value<e^{-5}且*q*-value<0.1）。

1.2.5 蛋白质互作网络分析与分子对接 SnRK2在ABA信号转导中发挥关键调控作用；MAPK参与调控植物对盐胁迫、干旱、温度等多种逆境的应答反应[24-25]。根据已有研究基础[25-26]，本研究利用STRING在线数据库（https://cn.string-db.org/）对6个SmRBOHs、6个SmSnRK2s和18个SmMAPKs进行蛋白质互作网络分析。所得目的序列经Swiss-model在线网站（https://swissmodel.expasy.org/）进行三级结构预测，生成的pdb文件经GRAMM在线软件（https://gramm.compbio.ku.edu/）分子对接后用Pymol软件[27]可视化。

1.2.6 *SmRBOHs*表达分析 利用丹参根、茎、叶和花的转录组数据（PRJNA744957），分析*SmRBOHs*在不同器官中的表达模式。采用RPKM法估算转录本的表达丰度（RPKM≥1则认为有效表达）。使用TBtools-II软件绘制基因表达热图[22]。此外，利用经脱落酸（ABA，50 μmol/L）处理0.5、1、2、4和8 h的丹参根转录组数据（SRP307198），以未处理组为对照，分析*SmRBOHs*对ABA处理的响应。最后，利用BMKCloud云服务器中的共表达模式聚类分析

(http://www.biocloud.net/)，对响应ABA的*SmRBOH*与丹酚酸和丹参酮的生物合成途径基因进行共表达模式分析。

1.2.7　丹参幼苗盐胁迫处理　选取饱满均匀、大小一致的丹参种子，将其播种于铺有两层湿润滤纸的培养皿中，随后置于光照培养箱内培养，培养条件为25 ℃、16 h光照/8 h黑暗交替。待种子萌发后，转移至营养土中继续培养；当幼苗生长至4叶期时，移栽至装有混合沙土（沙与营养土体积比1∶1）的花盆中（上口径16 cm、下口径12 cm、高15 cm）。将移栽后的幼苗置于温室中培养（25 ℃、16 h光照/8 h黑暗交替），30 d后进行盐胁迫处理。处理如下：（1）浇灌等量去离子水作为对照，分别在幼苗生长0、1和7 d时取根样；（2）单次浇灌等量200 mmol/L NaCl溶液，于幼苗生长1 d时取根样；（3）分别在第1天和第4天两次浇灌等量200 mmol/L NaCl溶液，于幼苗生长7 d时取根样。以上试验3次重复，样品-80 ℃保存备用。

1.2.8　RT-qPCR分析　使用Trelief®RNAprep Pure Plant Plus试剂盒提取样品总RNA，通过琼脂糖凝胶电泳评估RNA完整性。采用超微量分光光度计（Epoch，BioTek）定量RNA浓度。使用SynScript®III RT SuperMix for qPCR合成cDNA，并用ArtiCan^{CEO} SYBR qPCR Mix构建反应体系，内参基因为*SmActin*，*SmRBOH*s特异性引物见附表1；反应总体积为20 μL，模板体积为1 μL，用QuantStudio™ 1 Plus实时荧光定量PCR仪进行扩增，采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法进行定量分析[28]。

1.2.9　H_2O_2含量检测　将0.15 g样品置于冰浴中，用5 mL 0.1%（w/v）三氯乙酸均质化处理。随后10 000 × *g*下离心10 min，取上清液0.5 mL，与0.5 mL 10 mmol/L磷酸钾缓冲液（pH 6.8）和1 mL 1 mol/L的碘化钾溶液混合[29]。在黑暗中反应20 min后，测定上清液在390 nm波长下的吸光度。

1.2.10　丹参酮和丹酚酸含量检测　将根样品在50 ℃下烘干至恒重，取样品粉末（0.1 g）用1 mL 80%甲醇超声提取20 min，随后10 000 × *g*下离心5 min，收集上清液。再用1 mL 80%甲醇重复上述过程，合并上清液，经0.22 μm微孔滤膜过滤至样品瓶中。代谢物通过高效液相色谱（1260 Infinity II3030623, Agilent, USA）进行定量，配备Amethyst C_{18}-H柱（250 mm × 4.6 mm，粒径5 μm）。柱温为25 ℃。流动相由含0.1%（v/v）乙酸的水相（A）和100%乙腈（B）组成。在281 nm波长、1.2 mL/min流速下等度洗脱检测丹酚酸[30]；在270 nm波长、1 mL/min流速下梯度洗脱检测丹参酮，梯度洗脱如下：0−5 min，50% A；5−28 min，50%−30% A；28−30 min，30% A；30−30.5 min，30%−50% A；30.5−32.5 min，50%−40% A；32.5−34.5 min，40%−30% A；34.5−36.5 min，30% A；36.5−37 min，30%−50% A；37−45 min，50% A。

1.2.11　统计分析　利用Excel对数据进行整理；采用SPSS 11.0软件进行独立样本*t*检验和相关性分析。

2　结果

2.1　*SmRBOH*基因家族成员鉴定及其蛋白保守基序

BLAST同源比对后，去除过短、重复及冗余转录本，从丹参基因组数据库获得6个候选序列。为验证这些序列的家族特异性，进一步利用NCBI Batch-CDD在线工具进行保守结构域分析。结果表明，这6个候选序列均含有RBOH家族特征的保守结构域：NADPH_Ox、NAD_binding_6、FAD_binding_8、Ferric_reduct和EF-hand_7（图1-A）。综合分析，最终在丹参基因组中成功鉴定出6个*SmRBOH*s，依次命名为*SmRBOH1*−*SmRBOH6*。

SmRBOHs蛋白共包含11个保守基序，命名为Motif 1−Motif 11，且所有SmRBOHs均包含这11个完整的保守基序（图1-B）。其中，Motif11位于保守结构域NADPH_Ox，Motif7位于EF-hand_7结构域，Motif3、Motif4、Motif8和Motif9位于Ferric_reduct结构域，Motif2和Motif10位于FAD_binding_8结构域，Motif1、Motif5和Motif6位于NAD_binding_6结构域。*SmRBOHs*基因的内含子数量为9−13个，相应的外显子数量为10−14个。家族成员间内含子长度存在明显差异：*SmRBOH1*和*SmRBOH3*的内含子数量相同且长度较长；*SmRBOH2*的内含子数量最少，而*SmRBOH4*与*SmRBOH5*的内含子数量最多且长度适中；*SmRBOH6*的内含子数量为11个，长度最短（图1-C）。

2.2　SmRBOHs的理化特性及亚细胞定位分析

SmRBOHs的氨基酸数量差异显著，介于SmRBOH3的803个和SmRBOH2的962个之间，分子量范围为90.864−108.295 kD。所有SmRBOH蛋白的等

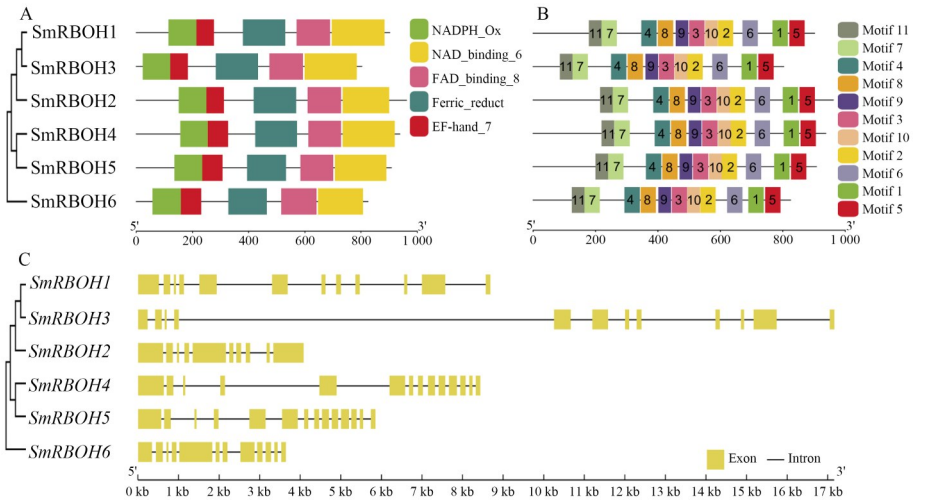


图1 *SmRBOHs*的保守结构域（A）、基因基序（B）和基因结构（C）

Fig. 1 Conserved domain (A), gene motif (B), and gene structure (C) of *SmRBOHs*

电点（pI）值均大于8，表明该家族蛋白均为碱性蛋白。家族内蛋白稳定性存在差异，蛋白不稳定性指数波动范围为40.69（SmRBOH2）–49.76（SmRBOH4）。疏水指数波动范围为78.58（SmRBOH6）–88.22（SmRBOH4）。所有SmRBOHs均为亲水性蛋白，其中SmRBOH5的GRAVY（grand average of hydropathicity）值最大（-0.119），亲水性最弱（附表2）。该家族蛋白定位多样，分布于质膜、内质网、细胞核、细胞质基质、叶绿体和液泡等部位。各成员定位特征存在差异：所有SmRBOHs均定位于质膜；此外，SmRBOH4和SmRBOH5还分布于细胞核；SmRBOH1、SmRBOH2、SmRBOH5和SmRBOH6还分布于内质网，其中SmRBOH5还分布于叶绿体和液泡，SmRBOH6还分布于细胞质基质和液泡（附表3）。

2.3 *SmRBOHs*系统进化分析

为阐明SmRBOHs系统发育特征，对丹参、拟南芥、水稻、番茄、黄芩和墨西哥鼠尾草等6个物种的61个RBOH蛋白全长序列进行比对，并构建了系统发育树（图2）。结果显示，所有RBOH蛋白可划分为3个亚组，每个亚组都包含这6个物种：G1组含14个成员，包括SmRBOH6；G2组含23个成员，包括SmRBOH4和SmRBOH5；G3组含24个成员，包括SmRBOH1、SmRBOH2和SmRBOH3。同源性分析表明，SmRBOHs内部亲缘关系最近的成对成员为SmRBOH1与SmRBOH3、SmRBOH2与SmRBOH3。

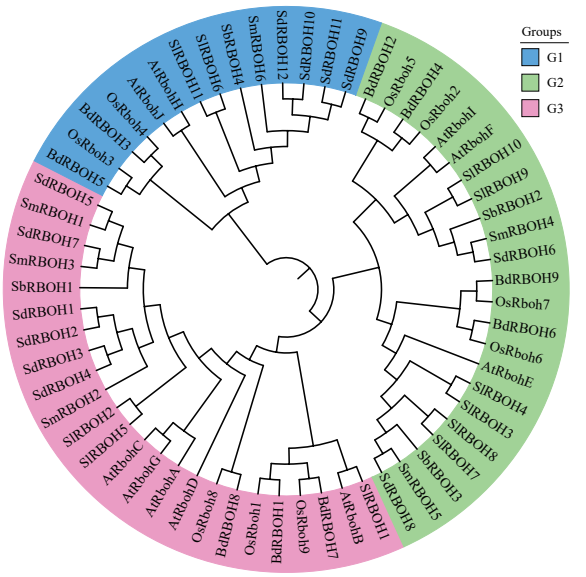


图2 丹参、拟南芥、水稻、番茄、黄芩和墨西哥鼠尾草RBOH蛋白的系统进化关系

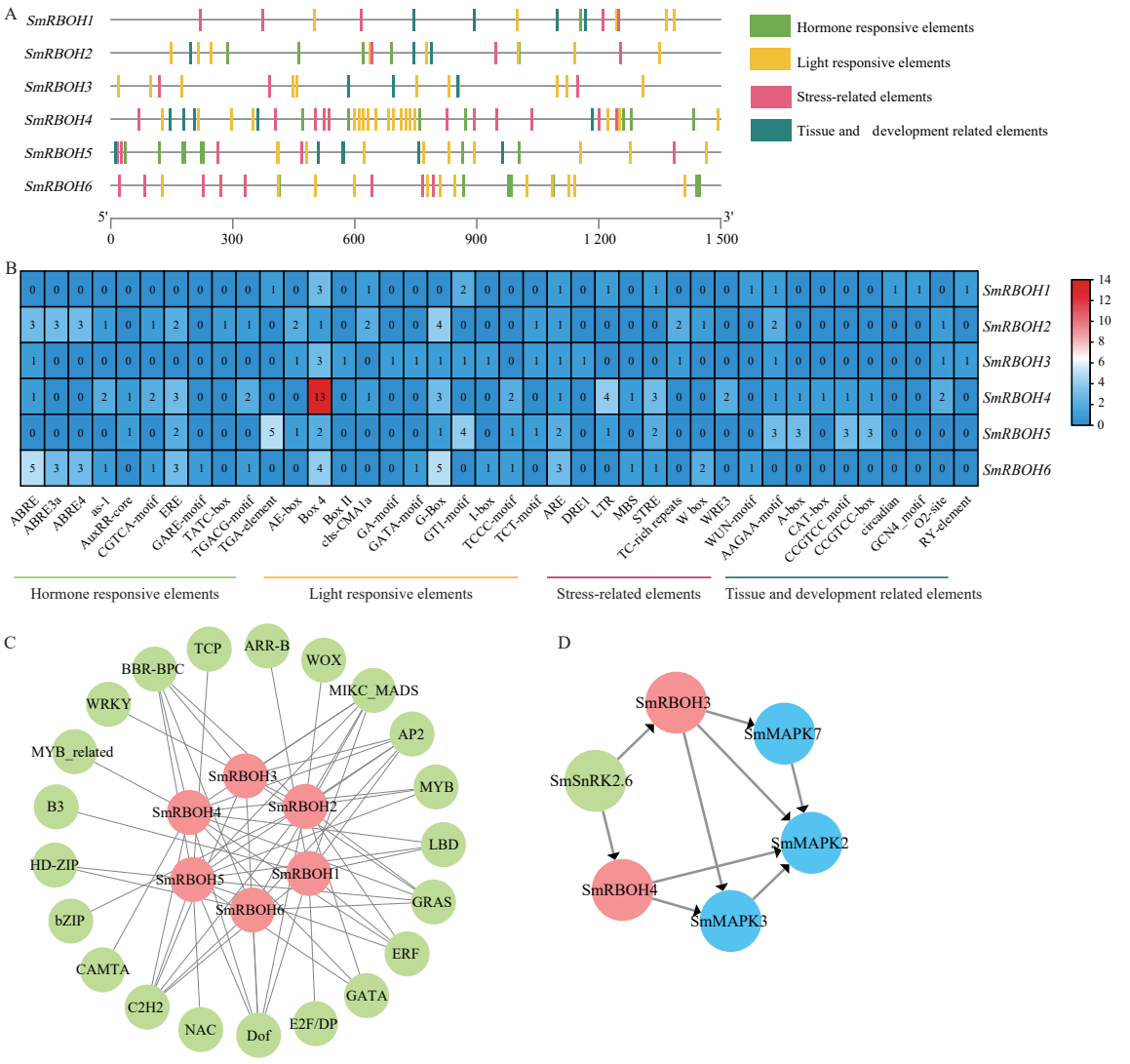
Fig. 2 Phylogenetic relationships of RBOH proteins from *Salvia miltiorrhiza*, *Arabidopsis thaliana*, *Oryza sativa*, *Solanum lycopersicum*, *Scutellaria baicalensis*, and *Salvia divinorum*

从整体来看，墨西哥鼠尾草RBOH蛋白（SdRBOH）和黄芩RBOH蛋白（SbRBOH）与SmRBOHs的亲缘关系最为密切，它们可能具有相似的功能，这与它们同为唇形科植物的分类一致。

2.4　*SmRBOHs*启动子顺式作用元件及转录结合位点分析

顺式元件分析表明，*SmRBOHs*启动子除含TATA-box、CAAT-box基础元件外，还分布大量光、激素、逆境及生长发育响应元件（图3-A）。光响应元件中，*SmRBOH4*富集数量最多，是光信号调控的关键成员。该家族启动子涵盖六大类激素应答元件，以ABA响应元件最为丰富。所有*SmRBOHs*均具备激素响应特性，其中*SmRBOH6*激素元件最多，可受多种激素协同调控。同时，*SmRBOHs*含有多种干旱、低温、氧化及病原菌胁迫响应元件，各基因至少含3类该响应元件，*SmRBOH4*胁迫元件数量最多，在丹参逆境适应中发挥重要作用。此外，该家族多成员携带生长发育相关元件，仅*SmRBOH6*缺失此类元件，*SmRBOH5*含该类元件数量最多，说明*SmRBOHs*不仅参与逆境与激素响应，还广泛调控丹参生长发育等生命过程（图3-B）。

在*SmRBOHs*启动子区共鉴定出21类转录因子



A：顺式作用元件类型；B：顺式作用元件数量；C：转录因子结合位点；D：蛋白互作分析

A: Types of *cis*-acting elements. B: Numbers of *cis*-acting elements. C: Transcription factor binding sites. D: Protein-protein interaction analysis

图3　*SmRBOHs*顺式作用元件及转录因子结合位点和蛋白互作分析

Fig. 3　Analysis of *cis*-acting elements, transcription factor binding sites, and protein-protein interactions of the *SmRBOHs*

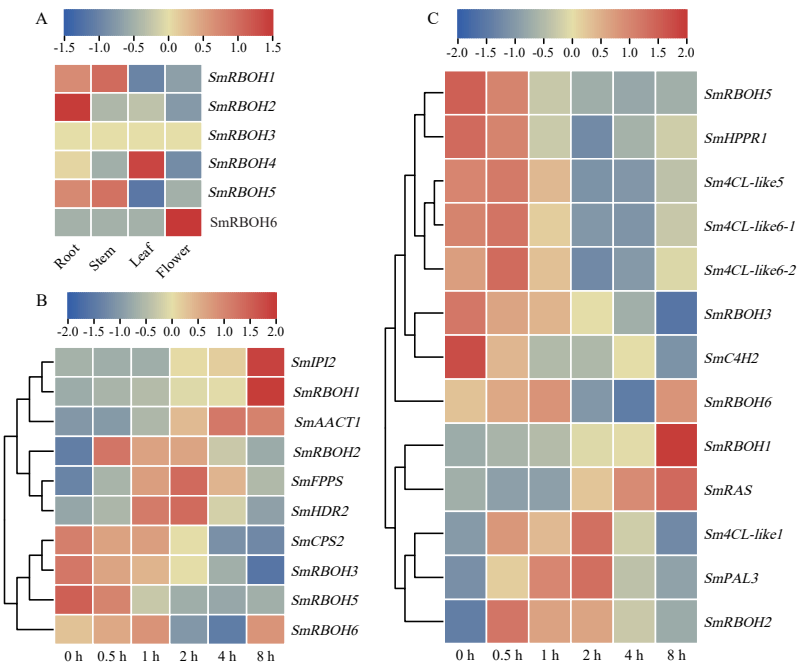
结合位点（图3-C），且所有*SmRBOHs*均存在转录因子结合位点，但不同成员的结合位点数量不同。*SmRBOH5*有13个；*SmRBOH2*与*SmRBOH4*各有12个；*SmRBOH1*、*SmRBOH6*和*SmRBOH3*分别有9、7和6个。从转录因子家族分布特征看，不同*SmRBOHs*具有的转录因子结合位点类型不同，如AP2、C2H2、Dof和MIKC_MADS类转录因子普遍存在于所有*SmRBOHs*中，这些转录因子可能对该基因家族表达具有普遍调控作用；而BBR-BPC和GRAS存在于除*SmRBOH1*外的5个基因中，TCP和NAC专属*SmRBOH5*；HD-ZIP则仅分布于*SmRBOH5*与*SmRBOH6*，这些转录因子对家族基因的调控可能具有特异性。

2.5 SmRBOHs互作分析

结合*SmRBOHs*启动子区ABA响应元件分布特征，以及植物逆境中SnRK2和MAPK激酶介导ABA信号与ROS调控的保守研究背景，进一步分析丹参RBOH潜在互作蛋白。利用STRING软件构建的蛋白质互作网络显示，2个SmRBOHs（SmRBOH3和SmRBOH4）与1个SmSnRK2（SmSnRK2.6）和3个SmMAPKs（SmMAPK2、SmMAPK3和SmMAPK7）存在潜在蛋白互作（图3-D）。进一步分子对接结果显示，SmRBOH3和SmRBOH4分别与SmSnRK2.6和SmMAPKs（SmMAPK2、SmMAPK3和SmMAPK7）蛋白之间均存在多个相互作用的氨基酸残基位点（附图1），这些蛋白质借助氨基酸残基发生相互作用，组装形成复合物，进而改变自身生物活性，发挥协同效应。

2.6 *SmRBOHs*表达模式分析

为探讨*SmRBOHs*在丹参生长发育中的作用，本研究分析其在根、茎、叶和花中的表达情况（图4-A）。结果显示，*SmRBOH1*、*SmRBOH2*、*SmRBOH4*和*SmRBOH5*在4个组织中均有表达，其中*SmRBOH2*在根中表达最高，*SmRBOH1*和*SmRBOH5*在根和茎中表达较高，*SmRBOH4*在根和叶中表达较高，这些基因与丹参根的生长发育及药材形成可能密切相关；*SmRBOH3*在4个组织中未检测到，*SmRBOH6*



A：*SmRBOHs*在不同组织中的表达；B：*SmRBOHs*与丹参酮生物合成途径基因响应ABA的共表达模式；C：*SmRBOHs*与丹酚酸生物合成途径基因响应ABA的共表达模式

A: Expression of *SmRBOHs* in different tissues. B: Co-expression pattern of *SmRBOHs* and genes involved in the biosynthesis pathway of tanshinone in response to ABA. C: Co-expression pattern of *SmRBOHs* and genes involved in the biosynthesis pathway of salvianolic acid in response to ABA

图4 *SmRBOHs*表达模式

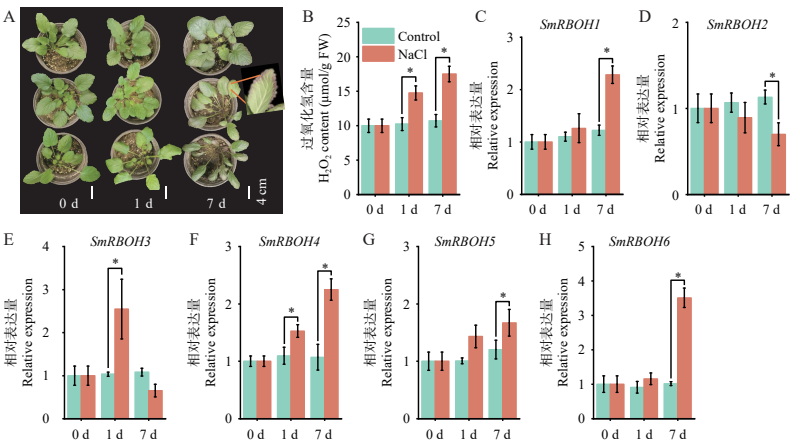
Fig. 4 Expression patterns of *SmRBOHs*

则在花中表达量最高，在根、茎和叶中很难检测到。

在*SmRBOH*基因的启动子区域，ABA响应元件数量最多。为探讨*SmRBOH*在丹参酮和丹酚酸合成中的作用，将ABA处理0（对照）、0.5、1、2、4和8 h的丹参毛状根转录组数据与*SmRBOHs*和丹参酮与丹酚酸的生物合成途径基因进行共表达模式分析。结果表明，至少有一个处理的*SmRBOH1*、*SmRBOH2*、*SmRBOH3*、*SmRBOH5*和*SmRBOH6*与对照相比，存在差异表达；从表达变化趋势看，*SmRBOH1*和*SmRBOH2*上调，*SmRBOH3*和*SmRBOH5*下调，*SmRBOH6*则先上调、后下调、再上调（图4-B, C）。共表达模式分析进一步表明，这些差异表达基因与8个丹酚酸生物合成途径基因及5个丹参酮生物合成途径基因聚集在一起（图4-B, C），可见这些*SmRBOHs*基因可能调控丹参活性成分的生物合成。

2.7　NaCl胁迫下丹参根系H_2O_2含量及*SmRBOHs*表达分析

与未处理组（对照）相比，NaCl处理1 d和7 d时，随处理天数增加，植株叶缘出现紫色、根系H_2O_2含量分别增加了47.65%和75.34%（图5-A, B）。NaCl处理1 d时，除*SmRBOH2*外，其余家族成员的表达均上调，且*SmRBOH3*和*SmRBOH4*达到显著水平。NaCl处理7 d时，*SmRBOH1*、*SmRBOH4*、*SmRBOH5*和*SmRBOH6*的表达均显著上调，*SmRBOH2*表达显著下调，而*SmRBOH3*表达无显著下调（图5-C–H）。



A–B：盐处理的丹参盆栽苗（A）和根系H_2O_2含量（B）；C–H：盐处理的丹参根系*SmRBOHs*的相对表达量。*P<0.05，下同

A–B: *S. miltiorrhiza* pot seedlings (A) and root H_2O_2 content (B) under salt stress. C–H: Relative expression of *SmRBOHs* in roots of salt-treated *S. miltiorrhiza* seedlings. *P<0.05. The same below

图5　盐胁迫下丹参盆栽苗表型、根系H_2O_2含量和*SmRBOHs*表达特征

Fig. 5　Phenotypes of pot seedlings, root H_2O_2 content, and *SmRBOHs* expression of *S. miltiorrhiza* under salt stress

2.8　盐胁迫下丹参根系丹酚酸和丹参酮含量分析

与未处理组（对照）相比，盐处理1 d时，丹参根中丹酚酸A、丹酚酸B和迷迭香酸含量均降低、而咖啡酸含量增加，其中丹酚酸B和迷迭香酸的变化达到显著水平。盐处理7 d时，丹酚酸A、丹酚酸B、咖啡酸和迷迭香酸含量均显著降低（图6-A）。此外，与对照相比，NaCl处理1 d和7 d，丹参根中二氢丹参酮I、隐丹参酮、丹参酮I和丹参酮IIA含量均增加，其中处理1 d时，二氢丹参酮I、隐丹参酮、丹参酮I和丹参酮IIA含量显著增加；处理7 d时，仅隐丹参酮和丹参酮IIA含量显著增加（图6-B）。

2.9　相关性分析

为明确基因表达水平与次生代谢产物之间的相关性，对15个指标进行Spearman分析（图7）。结果显示，H_2O_2含量与*SmRBOH1*、*SmRBOH3*、*SmRBOH4*、*SmRBOH5*和*SmRBOH6*表达呈正相关，且与*SmRBOH1*、*SmRBOH4*、*SmRBOH5*和*SmRBOH6*达极显著水平；与*SmRBOH2*表达呈极显著负相关；与迷迭香酸、丹酚酸A和丹酚酸B含量呈极显著负相关；与二氢丹参酮I、隐丹参酮、丹参酮I和丹参酮IIA含

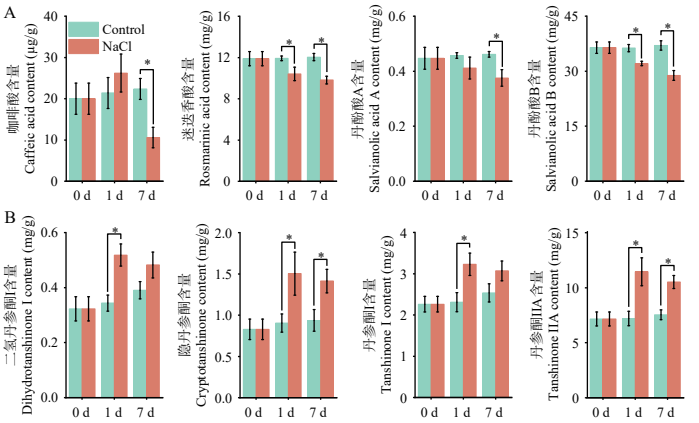
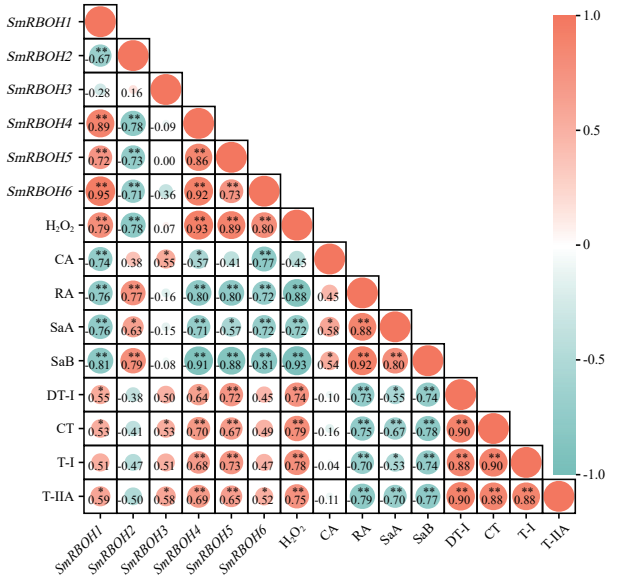


图6 盐胁迫对丹参根系丹酚酸(A)和丹参酮(B)含量的影响

Fig. 6 Effect of salt stress on the contents of salvianolic acid (A) and tanshinone (B) in the roots of *S. miltiorrhiza*



CA:咖啡酸;RA:迷迭香酸;SaA:丹酚酸A;SaB:丹酚酸B;DT-I:二氢丹参酮I;CT:隐丹参酮;T-I:丹参酮I;T-IIA:丹参酮IIA。**P<0.01

CA: Caffeic acid. RA: Rosmarinic acid. SaA: Salvianolic acid A. SaB: Salvianolic acid B. DT-I: Dihydrotanshinone I. CT: Cryptotanshinone. T-I: Tanshinone I. T-IIA: Tanshinone IIA. **P<0.01

图7 不同处理丹参根系*SmRBOHs*表达水平与H_2O_2含量、丹酚酸含量和丹参酮含量的相关性分析

Fig. 7 Correlation analysis of *SmRBOHs* expression in roots of *S. miltiorrhiza* under different treatments with H_2O_2, salvianolic acid, and tanshinone contents

量呈极显著正相关。此外，*SmRBOH1*、*SmRBOH3*、*SmRBOH4*、*SmRBOH5*和*SmRBOH6*的表达水平与二氢丹参酮I、隐丹参酮、丹参酮I和丹参酮IIA含量均呈正相关，且与丹参酮IIA含量达显著或极显著水平。*SmRBOH1*、*SmRBOH4*、*SmRBOH5*和*SmRBOH6*的表达水平与咖啡酸、迷迭香酸、丹酚酸A和丹酚酸B含量呈负相关，且*SmRBOH1*、*SmRBOH4*和*SmRBOH6*与这些酚酸含量呈显著或极显著负相关，*SmRBOH5*与迷迭香酸、丹酚酸A和丹酚酸B显著或极显著负相关，而*SmRBOH2*与迷迭香酸和丹酚酸B呈极显著正相关，与二氢丹参酮I、隐丹参酮、丹参酮I和丹参酮IIA含量呈负相关。

3 讨论

本研究从丹参基因组鉴定出6个*SmRBOHs*，成员数量与葡萄（*Vitis vinifera* L.）和火炬松（*Pinus taeda*）等植物一致，而与大豆（*Glycine max*）、玉米（*Zea mays* L.）、小麦（*Triticum aestivum* L.）等农作物差异明显[31]，可能与物种特性和基因组大小有关。SmRBOHs主要定位于质膜与内质网，基因结构、外显子数量和保守结构域均与拟南芥、水稻、番茄等植物RBOH家族高度一致，表明其序列和功能较为保守[31-35]。进化分析显示，SmRBOHs与唇形科近缘物种亲缘关系最近，进化特征与物种分类地位相符。组织表达分析显示，多数*SmRBOHs*在根部优势表达，部分基因呈组织特异表达或沉默特征，该表达模式在多种植物中高度保守[32, 35]。

顺式作用元件在基因表达中发挥重要调控功能[36]。*SmRBOHs*启动子富含多种激素与逆境响应顺式元件，不同家族成员响应激素类型有差异，同

时分布着低温、干旱、抗氧化、防御应激、损伤响应元件，表明该家族基因可响应激素与环境胁迫信号。RNA-seq分析表明，ABA处理可显著改变*SmRBOHs*的表达模式，各成员呈上调、下调、波动表达的差异化特征，与启动子含ABA响应元件的特征相符。共表达聚类显示，差异表达的*SmRBOHs*与丹酚酸、丹参酮生物合成基因密切关联，预示其参与调控丹参活性成分累积，与ABA促进丹参酮和丹酚酸生物合成的报道相吻合[37]。再者，盐胁迫可诱导丹参根部多个*SmRBOHs*，并伴随H_2O_2含量升高，表明该家族基因参与盐胁迫下ROS代谢与植株耐盐响应。其中，*SmRBOH3*、*SmRBOH4*可通过ABA介导的SnRK2/MAPK激酶通路参与盐胁迫应答，分子对接也验证了相关蛋白间存在多个氨基酸互作位点，与SnRK2/MAPK介导ABA信号、ROS平衡与RBOH蛋白调控的保守核心激酶通路相一致[38-42]，但该调控机制仍需实验进一步验证。结合其他植物*RBOH*时序性响应盐胁迫的报道[32, 34, 43-44]，本研究结果表明*SmRBOHs*存在明显的功能与表达分化，其中*SmRBOH2*表达与H_2O_2、丹参酮含量负相关，却正向调控丹酚酸积累，与其余家族成员趋势相反。*SmRBOH2*的这种功能或与其基因结构特征相关。再者，转录因子通过特异性结合靶基因启动子上的顺式作用元件来调控基因表达[45]。过表达*SmGRAS5*、*SmDof32*可分别提升丹参盐、旱耐受性并促进丹参酮、丹酚酸合成[46-47]。*SmRBOH3*、*SmRBOH4*除启动子具GRAS、Dof等转录因子结合位点外，还响应盐胁迫并伴随H_2O_2水平和活性成分累积变化。因此，盐胁迫下丹参可通过*SmRBOHs*家族成员的差异化表达，协同平衡ROS，进而构建多层次的耐盐调控网络，为解析药用植物*RBOH*家族基因的功能多样性提供理论依据。

已有研究显示，水培条件下≤100 mmol/L NaCl对丹参幼苗生长形态影响有限，但对干物质积累抑制显著[48]；本课题组前期盆栽试验表明，100[19]和200 mmol/L NaCl均可显著抑制丹参幼苗生长。本研究重点解析盐胁迫中后期应答，200 mmol/L NaCl可有效诱导盐胁迫响应及次生代谢变化。同时，单一盐浓度处理解析基因功能与代谢响应的策略已被广泛用于药用植物逆境研究[18, 49-50]。故本研究采用200 mmol/L NaCl来探究中后期盐胁迫下*SmRBOHs*对H_2O_2含量、丹酚酸和丹参酮积累的调控关系，阐明三者间的协同规律，现有结果已达预期研究目标。*RBOH*为逆境早期关键信号基因，短期胁迫下易出现瞬时表达波动，后续将增加胁迫取样梯度，并增加抗氧化、渗透调节、细胞膜稳定性等生理指标测定，系统解析*SmRBOHs*介导丹参耐盐的调控网络。因丹酚酸与丹参酮为鼠尾草属特有代谢产物，拟南芥等模式植物缺乏完整合成通路，难以真实反映*SmRBOHs*对丹参次生代谢的调控作用。后续将利用丹参稳定遗传转化体系开展基因功能验证，进一步揭示*SmRBOHs*参与盐胁迫响应及次生代谢调控的分子机制。

4　结论

鉴定出6个*SmRBOH*s，其序列保守但结构分化明显。其启动子富含激素、逆境响应顺式元件与转录因子结合位点。*SmRBOHs*具组织特异性表达特征，既可与丹酚酸、丹参酮合成基因共表达，又响应盐胁迫，还与H_2O_2含量、丹酚酸与丹参酮积累密切相关；其中SmRBOH3和SmRBOH4可与SmMAPKs及ABA通路因子SmSnRK2.6潜在互作。

文章所有附图附表请点击链接获取（https://biotech.aiijournal.com/fileup/1002-5464/NEWS/20261015094214_NewsFile_23.pdf）。

参考文献

[1] Wang PT, Liu WC, Han C, et al. Reactive oxygen species: Multidimensional regulators of plant adaptation to abiotic stress and development [J]. J Integr Plant Biol, 2024, 66(3): 330-367.

[2] Mittler R, Zandalinas SI, Fichman Y, et al. Reactive oxygen species signalling in plant stress responses [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2022, 23(10): 663-679.

[3] Shabbir R, Javed T, Sun SR, et al. Reactive oxygen species-(ROS) in plant defense: jack-of-all-trades [J]. Crit Rev Biotechnol, 2026, 46(1): 152-160.

[4] Sun LR, Zhao ZJ, Hao FS. NADPH oxidases, essential players of hormone signalings in plant development and response to stresses [J]. Plant Signal Behav, 2019, 14(11): 1657343.

[5] Su CY, Ming QL, Rahman K, et al. *Salvia miltiorrhiza*: Traditional medicinal uses, chemistry, and pharmacology [J]. Chin J Nat Med, 2015, 13(3): 163-182.

[6] Yang L, Huang XL, Wang ZH, et al. Research progress on the pharmacological properties of active ingredients from *Salvia miltiorrhiza*: a review [J]. Phytomedicine, 2025, 148: 157272.

[7] 刘佳欣, 张会龙, 邹荣松, 等. 不同类型盐生植物适应盐胁迫的生理生长机制及Na^+逆向转运研究进展 [J]. 生物技术通报, 2023, 39(1): 59-71.
Liu JX, Zhang HL, Zou RS, et al. Research progress in Na^+ antiport and physiological growth mechanisms of differernt halophytes adapted to salt stress [J]. Biotechnol Bull, 2023, 39(1): 59-71.

[8] 孙良丹. 盐碱地特色中药农业新理念思考与实践 [J]. 华北理工大学学报: 自然科学版, 2024, 46(1): 1-7.
Sun LD. Innovation and practice of new concepts in traditional Chinese medicine agriculture in saline-alkali land [J]. J N China Univ Sci Technol Nat Sci Ed, 2024, 46(1): 1-7.

[9] 黄姚姚, 申俊龙, 李洁. 逆境出质量: 从种质与环境的相互作用探讨道地药材的质量形成机制 [J]. 中草药, 2025, 56(8): 2945-2953.
Huang YY, Shen JL, Li J. Adversity breeds quality: Exploring quality formation mechanism of genuine medicinal materials from interaction between germplasm and environment [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2025, 56(8): 2945-2953.

[10] Qi JX, Yang SQ, Salam A, et al. OsRbohI regulates rice growth and development via jasmonic acid signalling [J]. Plant Cell Physiol, 2023, 64(6): 686-699.

[11] Wang HQ, Zhao XY, Xuan W, et al. Rice roots avoid asymmetric heavy metal and salinity stress via an RBOH-ROS-auxin signaling cascade [J]. Mol Plant, 2023, 16(10): 1678-1694.

[12] Chen YT, Zhang R, Wang RJ, et al. Overexpression of *OsRbohH* enhances heat and drought tolerance through ROS homeostasis and ABA mediated pathways in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Plants, 2024, 13(17): 2494.

[13] Huang Y, Cao HS, Yang L, et al. Tissue-specific respiratory burst oxidase homolog-dependent H_2O_2 signaling to the plasma membrane H^+-ATPase confers potassium uptake and salinity tolerance in Cucurbitaceae [J]. J Exp Bot, 2019, 70(20): 5879-5893.

[14] Di QH, Zhou MD, Li YS, et al. Respiratory burst oxidase homolog 5.1 regulates H3K4me3 deposition and transcription after cold priming in cucumber [J]. Plant Physiol, 2025, 197(2): kiae461.

[15] Zhang H, Liu XY, Tang C, et al. A respiratory burst oxidase homolog protein in *Pyrus* regulates stigmatic ROS production to control pollen tube growth [J]. Plant Physiol, 2025, 198(4): kiaf336.

[16] Yang XQ, Zhang F, Yang M, et al. The NADPH-oxidase LsRbohC1 plays a role in lettuce (*Lactuca sativa*) seed germination [J]. Plant Physiol Biochem, 2020, 154: 751-757.

[17] Huang WT, Zhang YL, Zhou JL, et al. The respiratory burst oxidase homolog protein D (*GhRbohD*) positively regulates the cotton resistance to *Verticillium dahliae* [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22 (23): 13041.

[18] Chai SY, Yang ZY, Deng XX, et al. ZnO quantum dots alleviate salt stress in *Salvia miltiorrhiza* by enhancing growth, scavenging reactive oxygen species, and modulating stress-responsive genes [J]. Environ Pollut, 2024, 344: 123363.

[19] Li HQ, Zhang JX, Mi XT, et al. Melatonin priming enhances the seed germination and seedling performance of *Salvia miltiorrhiza* under salt stress [J]. Ind Crops Prod, 2026, 242: 122972.

[20] 韩金龙, 张锋, 黄亭亭, 等. 26种药用植物黄河三角洲地区引种适应性评价 [J]. 现代中药研究与实践, 2017, 31(4): 5-7, 16.
Han JL, Zhang F, Huang TT, et al. Evaluation on the adaptability of the introduction of 26 species of medicinal plants in the Yellow River Delta [J]. Res Pract Chin Med, 2017, 31(4): 5-7, 16.

[21] 窦家聪, 邢晓飞, 杨久涛, 等. 不同覆膜材料对黄河三角洲盐碱地丹参生长的影响 [J]. 中国农技推广, 2025, 41(12): 87-89, 96.
Dou JC, Xing XF, Yang JT, et al. Effects of different film mulching materials on the growth of *Salvia miltiorrhiza* in saline-alkali land of the Yellow River Delta [J]. China Agric Technol Ext, 2025, 41 (12): 87-89, 96.

[22] Chen CJ, Wu Y, Li JW, et al. TBtools-II: a "one for all, all for one" bioinformatics platform for biological big-data mining [J]. Mol Plant, 2023, 16(11): 1733-1742.

[23] Zhou CH, Lin CC, Xing PY, et al. SmGDB: genome database of *Salvia miltiorrhiza*, an important TCM Plant [J]. Genes Genom, 2022, 44(6): 699-707.

[24] 张鑫苗, 伍国强, 魏明. MAPK在植物响应逆境胁迫中的作用 [J]. 草业学报, 2024, 33(1): 182-197.
Zhang XM, Wu GQ, Wei M. The role of MAPK in plant response to abiotic stress [J]. Acta Prataculturae Sin, 2024, 33(1): 182-197.

[25] 周颖, 白艳红, 王钰, 等. 丹参*SnRK2*基因家族的鉴定与表达 [J]. 分子植物育种, 2022, 20(7): 2233-2243.
Zhou Y, Bai YH, Wang Y, et al. Genome-wide idenfication and expression pattern analysis of *SnRK2* in *Salvia miltiorrhiza* Bunge [J]. Mol Plant Breed, 2022, 20(7): 2233-2243.

[26] Xie YF, Ding ML, Zhang B, et al. Genome-wide characterization and expression profiling of *MAPK* cascade genes in *Salvia miltiorrhiza* reveals the function of SmMAPK3 and SmMAPK1 in secondary metabolism [J]. BMC Genomics, 2020, 21(1): 630.

[27] Rosignoli S, Paiardini A. Boosting the full potential of PyMOL with structural biology plugins [J]. Biomolecules, 2022, 12(12): 1764.

[28] Livak KJ, Schmittgen TD. 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.

[29] Yang JW, Ma CL, Jia R, et al. Different responses of two maize cultivars to *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae infestation provide insights into their differences in resistance [J]. Front Plant Sci, 2023, 14: 1065891.

[30] Huang Q, Sun MH, Yuan TP, et al. The AP2/ERF transcription factor SmERF1L1 regulates the biosynthesis of tanshinones and phenolic acids in *Salvia miltiorrhiza* [J]. Food Chem, 2019, 274: 368-375.

[31] Zhang HY, Wang X, Yan A, et al. Evolutionary analysis of respiratory burst oxidase homolog (*RBOH*) genes in plants and characterization of *ZmRBOHs* [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(4): 3858.

[32] Wang YH, Liu ZS, Li L, et al. The characteristics and expression analysis of the tomato *SlRBOH* gene family under exogenous phytohormone treatments and abiotic stresses [J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(11): 5780.

[33] Du LH, Jiang Z, Zhou YD, et al. Genome-wide identification and expression analysis of respiratory burst oxidase homolog (*RBOH*) gene family in eggplant (*Solanum melongena* L.) under abiotic and biotic stress [J]. Genes, 2023, 14(9): 1665.

[34] Liu MM, Zhang Y, Pan T, et al. Genome-wide analysis of respiratory burst oxidase homolog gene family in pea (*Pisum sativum* L.) [J]. Front Plant Sci, 2023, 14: 1321952.

[35] Kaur G, Pati PK. Analysis of *cis*-acting regulatory elements of respiratory burst oxidase homolog (*Rboh*) gene families in *Arabidopsis* and rice provides clues for their diverse functions [J]. Comput Biol Chem, 2016, 62: 104-118.

[36] Zhang T, Wu AQ, Yue YP, et al. uORFs: important *cis*-regulatory elements in plants [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(17): 6238.

[37] Shi M, Hua Q, Kai GY. Comprehensive transcriptomic analysis in response to abscisic acid in *Salvia miltiorrhiza* [J]. Plant Cell Tissue Organ Cult PCTOC, 2021, 147(2): 389-404.

[38] de Zelicourt A, Colcombet J, Hirt H. The role of MAPK modules and ABA during abiotic stress signaling [J]. Trends Plant Sci, 2016, 21(8): 677-685.

[39] Manna M, Rengasamy B, Sinha AK. Revisiting the role of MAPK signalling pathway in plants and its manipulation for crop improvement [J]. Plant Cell Environ, 2023, 46(8): 2277-2295.

[40] Jalmi SK, Sinha AK. ROS mediated MAPK signaling in abiotic and biotic stress- striking similarities and differences [J]. Front Plant Sci, 2015, 6: 769.

[41] Acharya BR, Jeon BW, Zhang W, et al. Open Stomata 1 (OST1) is limiting in abscisic acid responses of *Arabidopsis* guard cells [J]. New Phytol, 2013, 200(4): 1049-1063.

[42] Begum K, Das A, Ahmed R, et al. Genome-wide analysis of respiratory burst oxidase homolog (*Rboh*) genes in *Aquilaria* species and insight into ROS-mediated metabolites biosynthesis and resin deposition [J]. Front Plant Sci, 2023, 14: 1326080.

[43] Wang J, Liu XJ, Kang YD, et al. Functional analysis and interaction networks of Rboh in poplar under abiotic stress [J]. Front Plant Sci, 2025, 16: 1553057.

[44] Pan L, Cai LR, Lu Y, et al. Genome-wide identification and expression analysis *Pvrboh* genes reveal their potential roles in salt tolerance and calcium signaling [J]. Plant Cell Physiol, 2026, 67 (1): 8-19.

[45] Anderssen S, Naômé A, Jadot C, et al. AURTHO: Autoregulation of transcription factors as facilitator of *cis*-acting element discovery [J]. Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech, 2022, 1865(5): 194847.

[46] Li WR, Yu JC, Wang RH, et al. Overexpression of SmGRAS5 enhances tolerance to abiotic stresses in *Salvia miltiorrhiza* [J]. Plant Physiol Biochem, 2025, 221: 109669.

[47] Lv BB, Feng QQ, Shao GG, et al. The transcription factor Dof32 coordinates salvianolic acid biosynthesis and drought tolerance in *Salvia miltiorrhiza* [J]. Plant Physiol, 2025, 198(2): kiaf221.

[48] Zhao GM, Shi QM, Han Y, et al. The physiological and biochemical responses of a medicinal plant (*Salvia miltiorrhiza* L.) to stress caused by various concentrations of NaCl [J]. PLoS One, 2014, 9(2): e89624.

[49] Bi Q, Yao H, Wang F, et al. Integrative analysis of the pharmaceutical active ingredient and transcriptome of the aerial parts of *Glycyrrhiza uralensis* under salt stress reveals liquiritin accumulation via ABA-mediated signaling [J]. Mol Genet Genomics, 2022, 297(2): 333-343.

[50] Zheng FX, Xu ZT, Deng XJ, et al. Comprehensive identification of aquaporins under salt stress, and functional characterization of DoTIP1-1 in *Dendrobium officinale* [J]. Plant Physiol Biochem, 2026, 231: 110952.

（责任编辑　高洁）