

TSA对花生不同抗旱品种的根响应干旱的影响

张志¹, 黄莹琳¹, 王金祥², 胡博¹, 李玲^{1,*}

¹华南师范大学生命科学学院, 广东省植物发育生物工程重点实验室, 广州510631

²华南农业大学资源与环境学院, 华南农业大学根系生物学研究中心, 广州510640

摘要:研究组蛋白去乙酰化酶抑制剂曲古抑菌素A(TSA)对不同抗旱品种花生‘粤油-7’和‘汕优-523’根系响应干旱的影响。结果表明,与对照相比,1 μmol·L⁻¹ TSA处理的花生根系在干旱下POD和SOD酶活力增加,抗旱相关基因AhNCED1、AhAREB1和AhDHN2的表达上升,并改变组蛋白H3ac、H3K9ac、H3K14ac的表达程度;与敏感品种‘汕优-523’相比,TSA处理下,抗旱品种‘粤油-7’根分生区和伸长区的细胞长度增加,总根长和根表面积较大、保水能力较强、POD酶活力较高。花生2个品种的根系在响应干旱时生理反应存在的差异,可能与根内组蛋白乙酰化水平和抗旱相关基因的表达变化相关。

关键词:TSA; 花生; 根; 响应干旱; 组蛋白乙酰化

表观遗传调控在植物胁迫响应过程中发挥重要作用,包括基因组DNA甲基化和组蛋白的乙酰化、甲基化、磷酸化、泛素化、糖基化等,其中组蛋白修饰在表观遗传调节途径中发挥重要作用。组蛋白乙酰化由组蛋白乙酰基转移酶(histone acetyltransferase, HATs)和组蛋白去乙酰基转移酶(histone deacetylases, HDACs)协同调控(Zhang等2007)。有研究表明植物特有的组蛋白去乙酰化酶(plant-specific histone deacetylases) HDT1/2调节GIBBERELLIN 2-OXIDASE2(简称GA2OX2)基因表达和乙酰化水平以抑制拟南芥根分生区细胞数量,推断组蛋白去乙酰化酶可通过调节根系生长来响应环境胁迫(Li等2017)。

不同作物的不同耐旱品种根系生理活性存在着差异。如干旱胁迫下的玉米根系的生物量与其产量呈显著正相关(高世斌等2005)。根作为植物吸收水分及矿质元素的重要器官,直接感受土壤干旱,生长旺盛的根系是作物抗旱的重要特征。花生(*Arachis hypogaea*)作为我国重要的油料和经济作物之一,其品质和产量仍受到干旱环境的制约(张智猛等2011)。

实验室前期研究表明,抑制花生组蛋白去乙酰化转移酶基因(AhHDA1)表达,提高花生毛状根细胞的响应渗透胁迫能力(苏良辰等2017),异源超表达AhHDA1的拟南芥可抑制其主根生长和侧根发生(曾丽丹等2019)。花生体内AhNAC2(刘旭和李玲2009)、AhDHN2(Su等2012)、AhAREB1(林

莹莹等2015)和AhNCED1(陈艳萍等2013)等是响应干旱胁迫的基因,参与了调节花生的抗旱反应。组蛋白去乙酰化酶抑制剂曲古抑菌素A(trichostatin A, TSA)能引起花生叶片中H3高度乙酰化,促进AhHDA1表达,组蛋白乙酰化水平增加,并激活转录因子,可促进四叶期花生幼苗叶片抗旱相关基因(AhNCED1、AhAREB1和AhNAC2)迅速表达以响应干旱胁迫(Su等2015;李丽梅等2015)。然而不同抗旱花生品种根系响应干旱时,组蛋白去乙酰化水平发生的变化以及对抗旱相关基因表达的影响不清楚。本文研究TSA处理不同抗旱品种花生根系对干旱胁迫响应的变化以及组蛋白乙酰化水平的影响作用,为认识组蛋白乙酰化影响花生抗旱的作用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

花生(*Arachis hypogaea* L.)抗旱品种‘粤油-7’和敏感品种‘汕优-523’,由广东省农业科学院作物研究所梁炫强研究员提供。选取饱满花生种子浸泡,转移至蒸馏水浸湿滤纸的培养基上。在光照培养箱(室温28°C,光周期为16 h光照/8 h黑暗)中继续培养,萌发后播种于盛有泥炭土的圆形花盆中,培养至四叶期。

收稿 2019-03-25 修定 2019-05-16

资助 国家自然科学基金(31471422)。

* 通讯作者(liling502@126.com)。

1.2 材料处理

1.2.1 TSA与干旱胁迫处理

挑选长势相同的四叶期花生幼苗, 用自来水将根部清洗干净, 于 $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ TSA溶液浸泡12 h, 然后在15%的聚乙二醇(PEG 6000, 后文简称PEG)溶液中分别处理0、2、10、24和48 h (对照组用蒸馏水预处理12 h, 随后用15% PEG处理相同的时间)。

1.2.2 根系形态分析

将花生的根系放入透明托盘内, 加入适量的水以避免分支根系的相互缠绕。用扫描仪(Seiko Epson CORR, Japan)对根系进行扫描, 用WinRhizo Pro vision 5.0a分析程序对根直径、根表面积、根体积和总根长进行数据分析处理。

1.2.3 根尖结构显微观察

取生长5 d的花生主根根尖固定在FAA固定液(38%福尔马林5 mL, 乙酸5 mL, 70%乙醇90 mL)中抽真空30 min, 脱水后包埋在石蜡块中。切片机切割成8 μm 厚切片并固定在载玻片上。将载玻片脱石蜡并使用梯度乙醇清洗, 最后用蒸馏水洗涤。随后进行甲苯胺蓝染色, 脱色后用中性树脂进行封片, 用体视荧光显微镜(LEICA M205 FA, Germany)对根尖分生区和伸长区细胞大小进行观察。

1.2.4 根含水量测定

按照Fukao等(2011)的方法测定花生的根系含水量。

1.2.5 根系活力测定

按照白宝璋等(1994) TTC (2,3,5-氯化三苯基四氮唑, 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride)的方法测根系活力。

1.2.6 根系POD和SOD酶活力测定

按照南京建成生物工程研究所(<http://www.njjcbio.com/>)的POD (A084-3)试剂盒和SOD (A001-3)试剂盒说明书进行测定。

1.2.7 基因表达量检测

RT-qPCR检测四叶期花生根中*AhHDA1*、*AhNCED1*、*AhAREB1*和*AhDHN2*的表达量, 所用引物见表1。利用TRIzol提取根部总RNA, 5X All-In-One RT MasterMix反转录试剂盒[购买自Applied Biological Materials (abm) Inc.]进行cDNA合成。

表1 相关基因表达所用的引物

Table 1 Primers for related gene expression

基因	引物序列(5'→3')
<i>actin</i>	F: GATTGGAATGGAAGCTGCTG R: CGGTCAGCAATACCAGGGAA
<i>AhHDA1</i>	F: GAGAGTGATGGGGATAGAAG R: GGAGTAGTGAACGATGAGGT
<i>AhNCED1</i>	F: TTACCTGTGGGATTGTTGC R: ACATGAGCCTCTACTTCTGC
<i>AhAREB1</i>	F: ACAAGGGCAACCAGCATAGG R: TCACCACCACCATACCAACCA
<i>AhDHN2</i>	F: GTTACTTCCATTACCGC R: GCTTATTCTCACCCCTCCTT

参照李丽梅等(2015)的扩增程序, 使用Bio-Rad CFX96 Touch荧光实时定量PCR仪检测基因表达量。参照刘星等(2018)的方法分析基因的相对表达量。

1.2.8 Western blot检测TSA和PEG处理下花生根组蛋白乙酰化水平

参照Su等(2015)的方法检测。

1.2.9 数据分析

使用SPSS 18.0统计软件, 所有数据用均数±标准差表示, 多组均数之间进行方差齐性检验后, 进行方差分析(ANOVA), $P<0.05$ 表示差异有显著性。使用Microcal Origin 7.5软件作图。

2 实验结果

2.1 TSA对花生不同抗旱品种在干旱期间根系生长的影响

由图1可知, 与‘汕优-523’相比, ‘粤油-7’的总根长较长, 而根直径较低。当PEG处理48 h时, 花生2个品种的根直径和根体积都有所增加, 而总根长减少; TSA处理对干旱胁迫下2个品种根直径、根表面积、根体积和总根长没有显著影响。图2表明, 生长5 d的‘粤油-7’根尖分生区和生长区细胞小于‘汕优-523’, TSA处理使‘粤油-7’分生区和生长区细胞增大, 而在‘汕优-523’中减小。

2.2 TSA对花生不同抗旱品种根在响应干旱胁迫时生理的影响

由图3-A可知, PEG处理48 h, ‘粤油-7’和‘汕优-523’花生的根系含水量明显降低, 且经TSA处

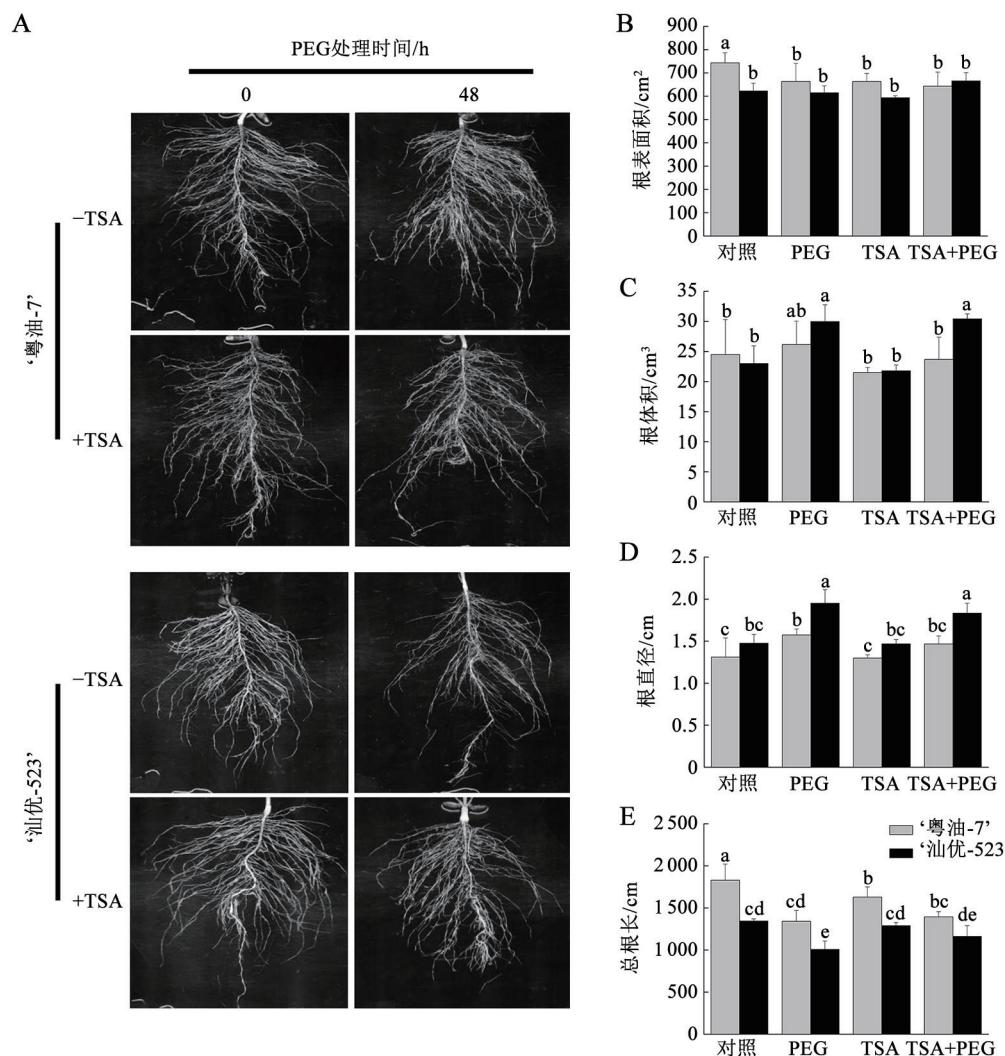


图1 TSA对花生不同品种在干旱胁迫下根系生长的影响

Fig.1 Effect of TSA on root growth in different peanut cultivars under drought stress

A: 四叶期花生品种‘粤油-7’和‘汕优-523’在TSA+PEG处理下的表型; B: 根直径; C: 根表面积; D: 根体积; E: 总根长。PEG: PEG处理48 h; TSA: TSA预处理12 h; TSA+PEG: TSA预处理12 h后用PEG处理48 h。不同小写字母代表差异显著($P<0.05$)，下图同此。

理的花生2个品种在干旱胁迫下，根含水量更低。与‘汕优-523’相比，干旱胁迫下‘粤油-7’根系含水量较高，且TSA处理后根的保水能力仍然高于‘汕优-523’。花生2个品种根在响应干旱初期，根活力皆增加，但‘粤油-7’的根活力低于‘汕优-523’(图3-B)。‘粤油-7’用PEG处理24 h根系SOD酶活力没有明显变化，经TSA处理后在干旱胁迫下根系SOD酶活力增加；‘汕优-523’经TSA处理后在水分胁迫24 h时，根部SOD酶活力显著增加(图3-C)。经TSA

处理的‘粤油-7’和‘汕优-523’在干旱胁迫下根系POD酶活力均增加(图3-D)。总之，两个品种相比，‘粤油-7’在干旱期间根的保水能力更高，POD酶活力更高，但根活力较低。

2.3 TSA对花生根响应干旱胁迫中*AhHDA1*表达和组蛋白乙酰化水平的影响

组蛋白去乙酰化酶基因*AhHDA1*影响花生对干旱胁迫的响应过程。未经TSA处理组中，‘粤油-7’根部*AhHDA1*表达在PEG处理2 h时达到峰值，

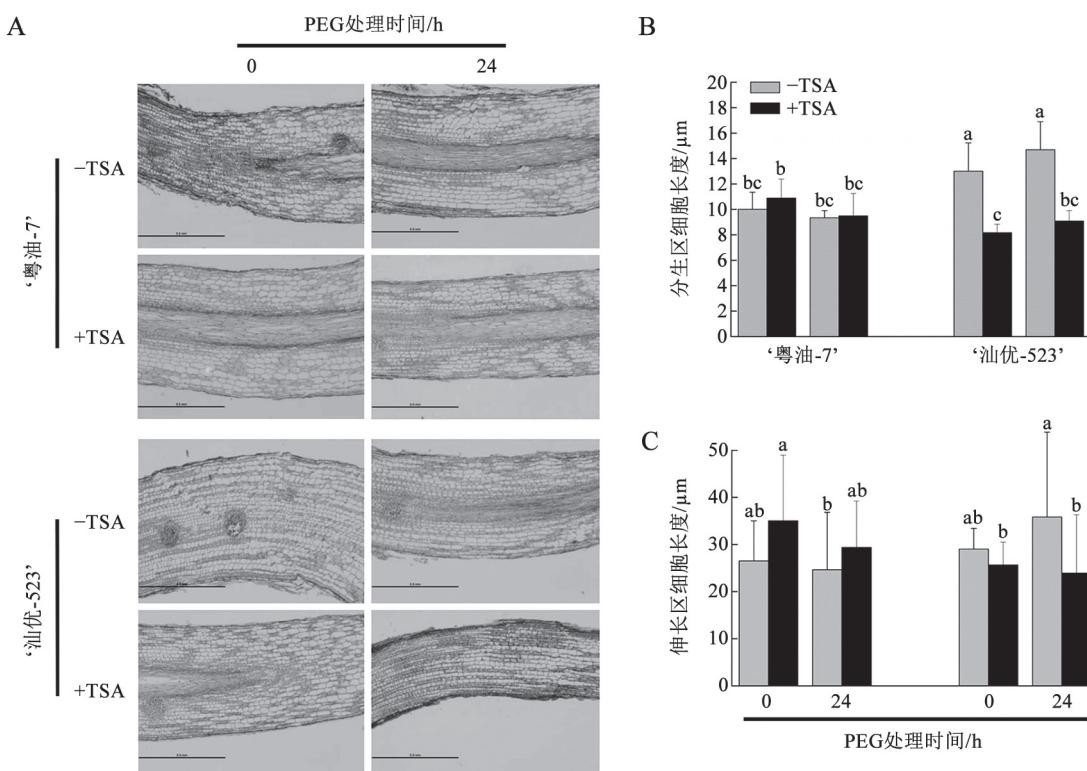


图2 TSA处理对花生不同品种在干旱胁迫下主根根尖细胞的影响

Fig.2 Effect of TSA on morphological changes in root tips of different peanut cultivars under drought stress

A: 根尖伸长区显微结构; B: 分生区细胞长度; C: 伸长区细胞长度。

随PEG处理时间的延长显著降低; 经TSA处理后随干旱处理时间延长表达不断降低。‘汕优-523’根系随PEG处理*AhHDA1*表达显著增加且TSA的处理减缓其表达(图4-A)。

组蛋白乙酰化修饰参与花生对干旱胁迫的响应。干旱胁迫下, ‘粤油-7’根中组蛋白H3、H3K9和H3K14乙酰化程度逐渐降低, 而在‘汕优-523’中趋势相反; TSA处理使‘粤油-7’根中组蛋白各位点乙酰化程度明显增强, 在‘汕优-523’相反(图4-B和C)。总之, TSA处理的2个不同品种响应干旱时根内*AhHDA1*表达规律有差异, 且组蛋白H3不同位点乙酰化变化不同。

2.4 TSA对花生不同抗旱品种根在响应干旱时相关基因表达的影响

AREB是与ABRE (ABA responsive element)结合的转录因子, 可激活干旱胁迫下的ABA依赖型基因的表达。NCED (9-cis-epoxycarotenoid di-

oxygenase)是ABA合成途径的关键限速酶。与‘汕优-523’相比, ‘粤油-7’在模拟干旱胁迫时根系*AhAREB1*和*AhNCED1*表达显著提高, 且TSA促进花生2个品种在响应干旱胁迫时该基因的表达(图5-A和B)。

脱水素(dehydrins, DHNs)基因在花生响应干旱胁迫过程中受ABA的调控。TSA处理与否, ‘粤油-7’根中*AhDHN2*表达趋势相同, 均在PEG处理2 h时表达降低, 随干旱时间延长表达量逐渐增加, 胁迫24 h时达到峰值; 值得注意的是经TSA处理的‘汕优-523’根中*AhDHN2*表达显著降低, 随干旱进行该基因表达逐渐增加(图5-C)。

3 讨论

组蛋白乙酰化/去乙酰化可调控基因表达, 是染色质水平上常见的表观修饰方式。在环境胁迫条件下, 植物可通过改变组蛋白乙酰化水平来调

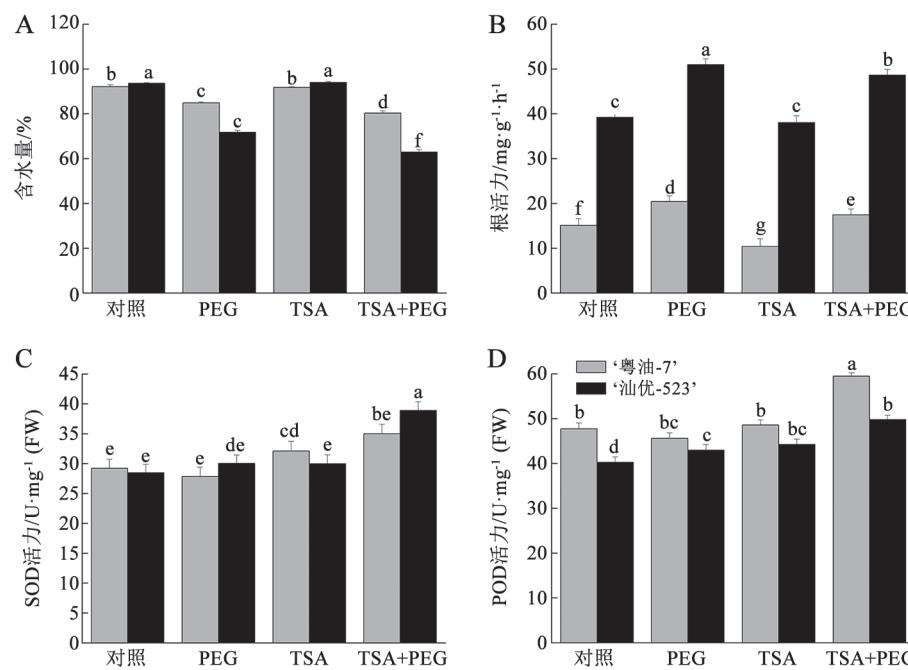


图3 TSA对花生不同品种根系响应干旱胁迫时生理的影响

Fig.3 Effect of TSA on physiology in roots of different peanut cultivars under drought stress

A: 根系含水量, PEG: PEG处理48 h; TSA: TSA预处理12 h; TSA+PEG: TSA预处理12 h后用PEG处理48 h; B: 根系活力, PEG: PEG处理2 h; TSA: TSA预处理12 h; TSA+PEG: TSA预处理12 h后用PEG处理2 h; C: 根系POD酶活力; D: 根系SOD酶活力。C和D中PEG: PEG处理24 h; TSA: TSA预处理12 h; TSA+PEG: TSA预处理12 h后用PEG处理24 h。

节相关基因表达, 进而减少胁迫造成的损伤。前期研究结果表明组蛋白乙酰化修饰参与花生叶片对干旱胁迫的响应(Su等2015)。作物不同品种的根系在响应干旱胁迫过程中表型和生理都存在差异, 本文结果表明, 与‘汕优-523’相比, ‘粤油-7’根在干旱胁迫下其根表面积和总根长较大(图1)且保水能力较高, 可能是其抗旱能力强的原因之一。植物在干旱胁迫下体内SOD、POD和CAT酶活性增高, 以减轻活性氧水平增加造成的膜脂过氧化程度, 而‘粤油-7’和‘汕优-523’根在响应干旱过程中SOD和POD酶活力的变化程度不同(图3-C和D), 说明不同抗旱品种花生根在响应干旱胁迫时抗氧化的途径有别。TSA处理加快花生叶片气孔关闭, 使其在干旱胁迫下减缓失水的程度, 以缓解干旱造成的影响(李丽梅等2015), 而本文TSA的处理却使得根系含水量降低, 且花生不同品种根含水量随干旱时间的延长下降程度不同(‘粤油-7’含水量较高) (图3-A)。说明花生根和叶片在响应干旱胁迫

方面存在差异。

TSA可调节植物下游抗旱相关基因的表达及H3乙酰化水平。‘粤油-7’在干旱胁迫下*AhHDA1*迅速表达, 且经TSA处理后表达降低, 而‘汕优-523’在干旱胁迫下持续表达, 经TSA处理后, 表达升高。TSA处理的花生2个品种在干旱胁迫下根H3、H3K9和H3K14乙酰化程度不同, 且在‘粤油-7’中变化显著(图4)。TSA改变组蛋白乙酰化水平进而影响下游基因的表达。与‘汕优-523’相比, 经TSA处理的‘粤油-7’在干旱胁迫前期, 根*AhDHN2*和*AhNCED1*表达显著增加(图5)。

前期研究表明, 相较于敏旱品种‘汕优-523’, 抗旱花生品种‘粤油-7’在水分胁迫下, 叶片气孔开度下降较快, 相对含水量较高, 保水能力较强(胡博等2012a), 叶片维管组织中ABA分布增强且含量增加, *AhNCED1*蛋白分布也增强(胡博等2012b); 干旱胁迫下ABA代谢关键酶*AhCYP707A*的蛋白表达和分布强于‘汕优-523’(曹家佳等2016), 是其抗

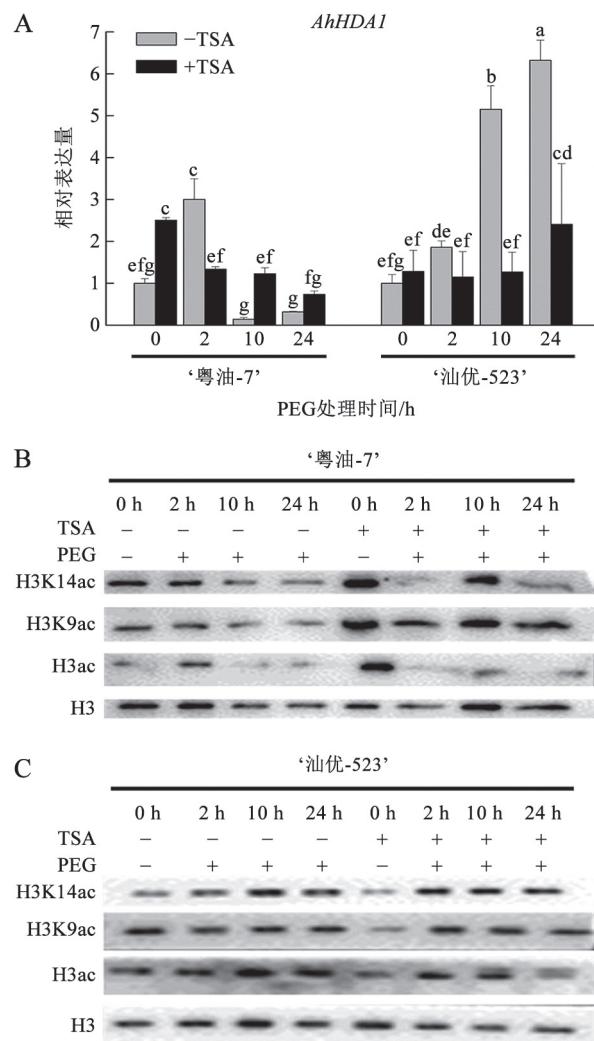


图4 TSA对干旱期间花生幼苗根部*AhHDA1*和组蛋白H3乙酰化表达变化的影响

Fig.4 Effect of TSA on *AhHDA1* and histone H3 acetylation in different peanuts root under drought stress

A: TSA处理对‘粤油-7’和‘汕优-523’根响应干旱胁迫时*AhHDA1*表达的影响; B: TSA处理对‘粤油-7’根响应干旱胁迫时组蛋白H3乙酰化表达的影响; C: TSA处理对‘汕优-523’根响应干旱胁迫时组蛋白H3乙酰化表达的影响。

旱性强的重要原因。本文的结果进一步表明,不同抗旱花生品种的根部表型有差异,在响应干旱时生理反应也有差别,与根内组蛋白不同乙酰化位点修饰及其乙酰化水平相关。说明花生2个不同抗旱品种根部响应干旱胁迫的机制有差异,有待继续研究。

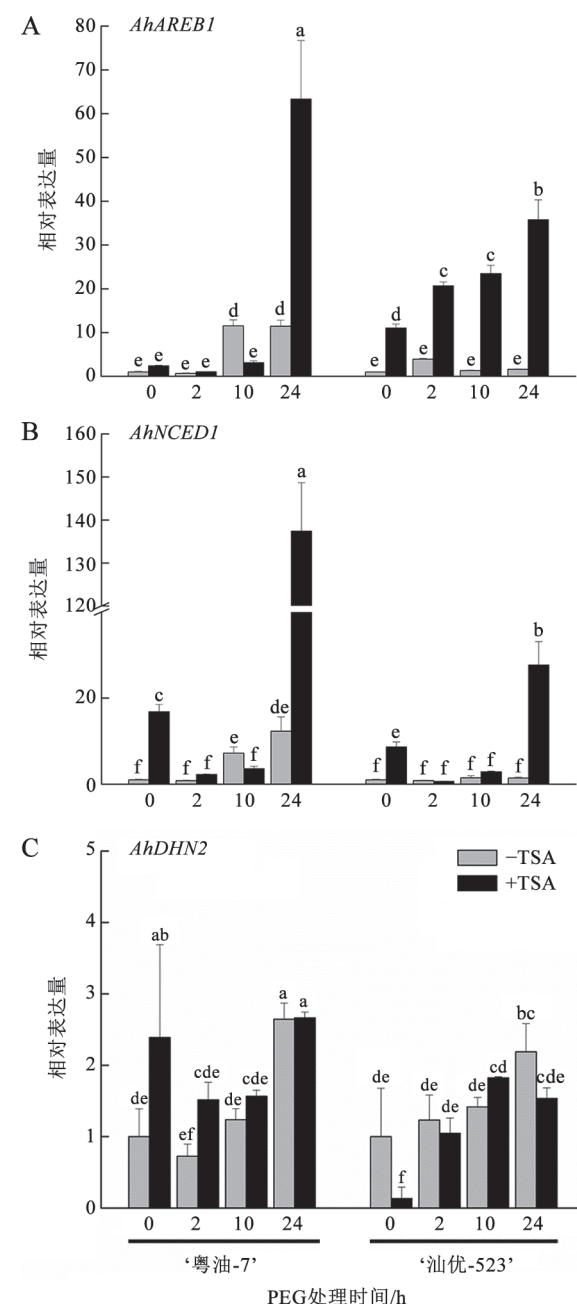


图5 TSA对花生不同抗旱品种根部在响应干旱胁迫时相关基因表达的影响

Fig.5 Effect of TSA on drought response genes in root of different peanuts cultivars under drought stress

参考文献(References)

Bai BZ, Jin JZ, Bai S, et al (1994). Improvement of TTC method determining root activity in corn. J Maize Sci, (4):

- 44–47 (in Chinese with English abstract) [白宝璋, 金锦子, 白崧等(1994). 玉米根系活力TTC测定法的改良. 玉米科学, (4): 44–47]
- Cao JJ, Lü Y, Hu B, et al (2016). Changes of AhCYP707A1 proteins and ABA distribution in peanut leaves under water stress. *Plant Physiol J*, 52 (4): 436–444 (in Chinese with English abstract) [曹家佳, 吕滟, 胡博等(2016). 花生响应水分胁迫过程中叶片AhCYP707A1蛋白和ABA分布的变化. 植物生理学报, 52 (4): 436–444]
- Chen YP, He JL, Li LM, et al (2013). The relationship between the expression of *AhNCED1* and drought resistance physiology of different peanut varieties. *Plant Physiol J*, 49 (4): 369–374 (in Chinese with English abstract) [陈艳萍, 何金丽, 李丽梅等(2013). 不同花生品种抗旱生理与*AhNCED1*基因表达的关系. 植物生理学报, 49 (4): 369–374]
- Fukao T, Yeung E, Bailey-Serres J (2011). The submergence tolerance regulator SUB1A mediates crosstalk between submergence and drought tolerance in rice. *Plant Cell*, 23: 412–427
- Gao SB, Feng ZL, Li WC, et al (2005). Mapping QTLs for root and yield under drought stress in maize. *Acta Agron Sin*, (6): 718–722 (in Chinese with English abstract) [高世斌, 冯质雷, 李晚忱等(2005). 干旱胁迫下玉米根系性状和质量的QTLs分析. 作物学报, (6): 718–722]
- Hu B, Lü Y, Xiao SN, et al (2012a). The change of AhNCED1 protein expression and stomatal aperture in peanut leaves under water stress. *Plant Physiol J*, 48 (8): 815–820 (in Chinese with English abstract) [胡博, 吕滟, 肖素妮等(2012a). 水分胁迫下花生叶片AhNCED1蛋白表达与气孔开度的变化. 植物生理学报, 48 (8): 815–820]
- Hu B, Xiao SN, Lü Y, et al (2012b). Distribution of ABA and AhNCED1 in peanut leaves of different drought resistant cultivars subjected to drought stress. *Chin J Cell Biol*, 34 (10): 992–997 (in Chinese with English abstract) [胡博, 肖素妮, 吕滟等(2012b). 不同花生品种响应干旱胁迫后叶片内ABA与AhNCED1的分布. 中国细胞生物学报, 34 (10): 992–997]
- Li HC, Torres-Garcia J, Latrasse D, et al (2017). Plant specific histone deacetylases HDT1/2 regulate *GIBBERELLIN 2-OXIDASE2* expression to control *Arabidopsis* root meristem cell number. *Plant Cell*, 29 (9): 2183–2196
- Li LM, Zhong YT, Su LC, et al (2015). Effect of TSA on responses and related genes expression of peanut under drought stress. *Plant Physiol J*, 51 (12): 2263–2269 (in Chinese with English abstract) [李丽梅, 钟钰婷, 苏良辰等(2015). TSA对花生响应干旱及相关基因表达的影响. 植物生理学报, 51 (12): 2263–2269]
- Lin YY, Li XY, Liu S, et al (2015). Auxin distribution in *Arabidopsis* plants over-expression *AhAREB1* encoding a transcription factor. *J South China Norm Univ (Nat Sci)*, 47 (1): 87–92 (in Chinese with English abstract) [林莹莹, 李晓云, 刘帅等(2015). 过表达转录因子*AhAREB1*对拟南芥生长素分布的影响. 华南师范大学学报(自然科学版), 47 (1): 87–92]
- Liu X, Li L (2009). Cloning and characterization of the NAC-like gene *AhNAC2* and *AhNAC3* in peanut. *Acta Agron Sin*, 35 (3): 541–545 (in Chinese with English abstract) [刘旭, 李玲(2009). 花生NAC转录因子*AhNAC2*和*AhNAC3*的克隆及转录特征. 作物学报, 35 (3): 541–545]
- Liu X, Lian SM, Long HT, et al (2018). Study on physiological characteristics and related gene expression of peanut leaves during recovery after drought. *Plant Physiol J*, 54 (11): 1695–1702 (in Chinese with English abstract) [刘星, 练思曼, 龙海涛等(2018). 花生叶片旱后恢复生长的生理特征及相关基因表达的研究. 植物生理学报, 54 (11): 1695–1702]
- Su LC, Deng B, Liu S, et al (2015). Isolation and characterization of an osmotic stress and ABA induced histone deacetylase in *Arachis hypogaea*. *Front Plant Sci*, 6: 512
- Su LC, Liu X, Chen YP, et al (2012). Isolation of *AhDHNs* from *Arachis hypogaea* L. and evaluation of *AhDHNs* expression under exogenous abscisic acid (ABA) and water stress. *Afr J Biotechnol*, 11 (51): 11221–11229
- Su LC, Zhong YT, Li L (2017). Physiological regulation effect of *AhHDA1* on peanut hairy roots to drought stress. *Plant Physiol J*, 53 (10): 1893–1900 (in Chinese with English abstract) [苏良辰, 钟钰婷, 李玲(2017). *AhHDA1*对花生毛状根干旱的生理调节作用. 植物生理学报, 53 (10): 1893–1900]
- Zeng LD, Wu XQ, Li XY, et al (2019). *AhHDA1* affecting root growth of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol J*, 55 (2): 203–208 (in Chinese with English abstract) [曾丽丹, 吴鑫泉, 李晓云等(2019). *AhHDA1*异源表达对拟南芥根系生长的影响. 植物生理学报, 55 (2): 203–208]
- Zhang KL, Sridhar VV, Zhu JH, et al (2007). Distinctive core histone post translational modification patterns in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS One*, 2 (11): e1210
- Zhang ZM, Wan SB, Dai LX, et al (2011). Response of different peanut varieties to drought stress. *Chin J Eco-Agric*, 19 (3): 631–638 (in Chinese with English abstract) [张智猛, 万书波, 戴良香等(2011). 不同花生品种对干旱胁迫的响应. 中国生态农业学报, 19 (3): 631–638]

Effect of TSA on response of root of different peanut cultivars to drought stress

ZHANG Zhi¹, HUANG Ying-Lin¹, WANG Jin-Xiang², HU Bo¹, LI Ling^{1,*}

¹Guangdong Provincial Key Laboratory of Biotechnology for Plant Development, School of Life Sciences, South China Normal University, Guangzhou 510631, China

²College of Nature Resources and Environment, Root Biology Center, South China Agricultural University, Guangzhou 510640, China

Abstract: This paper reveals the response of root to drought stress in two peanut cultivars ('Yueyou-7' and 'Shanyou-523') when treated by trichostatin A (TSA), the histone deacetylase inhibitor. The results showed that, compared with the control, the activities of POD and SOD of roots in peanuts were increased under the treatment of $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TSA, then promoted the expression of drought-resistant genes, such as *AhNCED1*, *AhAREB1* and *AhDHN2*, and changed the expression of histone H3ac, H3K9ac, H3K14ac. Compared with drought-sensitive cultivar 'Shanyou-523', the length of meristem and elongation cells in drought-resistant cultivar 'Yueyou-7' were longer when treated with TSA, and 'Yueyou-7' had longer root length and larger root surface area, stronger water retention capacity and higher POD enzyme activity. In response to drought stress, the different physiological responses of roots in different peanut cultivars may be related to the levels of histone acetylation and gene expression.

Key words: TSA; peanut; root; drought response; histone acetylation

Received 2019-03-25 Accepted 2019-05-16

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31471422).

*Corresponding author (liling502@126.com).