

## 三浅裂野牵牛 *SnRK2* 基因家族的鉴定和表达分析

董静静<sup>1</sup>, 刘心怡<sup>1</sup>, 刘晓宇<sup>2</sup>, 赵青松<sup>1</sup>

(1. 长治学院 生命科学系, 山西 长治 046011; 2. 西南大学 蚕桑纺织与生物质科学学院, 重庆 400799)

**摘要:**蔗糖非酵解型蛋白激酶 SnRK 可分为 SnRK1、SnRK2 和 SnRK3 共 3 个亚族, 其中, SnRK2 是一类仅存在于植物中的蛋白激酶, 已在多种植物中得到了鉴定, 其在植物生长发育、胁迫响应和信号转导中发挥了重要作用。为探究三浅裂野牵牛中 *SnRK2* 基因家族的成员并推测其功能, 利用拟南芥 SnRK2 蛋白序列, 通过生物信息学方法筛选并鉴定 *ItfSnRK2* 基因家族成员, 对各成员的特征进行分析, 采用转录组数据分析 *ItfSnRK2* 各成员在不同组织和非生物胁迫下的表达谱。结果发现, 三浅裂野牵牛中共有 7 个 *ItfSnRK2* 基因, 分别位于 6 条不同的染色体上, 依据染色体排列顺序依次命名为 *ItfSnRK2.1~ItfSnRK2.7*, 它们均含有保守的激酶结构域和调节结构域。进化树分析结果显示, *ItfSnRK2* 分为 3 个亚家族。基因结构分析显示, 同一亚家族的成员具有相似的基因结构和保守基序组成。表达谱分析则揭示了 *ItfSnRK2* 基因具有组织表达的特异性, *ItfSnRK2.2*、*ItfSnRK2.3*、*ItfSnRK2.4* 和 *ItfSnRK2.5* 的表达受非生物胁迫诱导, 可能与抗性调节有关, 以上结果为进一步了解 *SnRK2* 基因在甘薯逆境胁迫响应和信号转导中的具体功能提供了重要线索, 也为甘薯的抗逆性改良提供了潜在的基因资源。

**关键词:**三浅裂野牵牛; *SnRK2* 基因家族鉴定; 生物信息学分析

中图分类号: Q78

文献标识码: A

文章编号: 1002-2481(2024)04-0042-09

### Identification and Expression Analysis of *SnRK2* Gene Family in *Ipomoea trifida*

DONG Jingjing<sup>1</sup>, LIU Xinyi<sup>1</sup>, LIU Xiaoyu<sup>2</sup>, ZHAO Qingsong<sup>1</sup>

(1. Department of Life Sciences, Changzhi University, Changzhi 046011, China;

2. College of Sericulture, Textile and Biomass Sciences, Southwest University, Chongqing 400799, China)

**Abstract:** Sucrose nonfermenting-1-related protein kinase (SnRK) is a widely available non-glycolytic protein kinase involved in sucrose metabolism, which can be categorized into three subfamilies: SnRK1, SnRK2, and SnRK3. SnRK2 is exclusively found in plants and has been identified in various plant species, playing crucial roles in plant growth, development, stress response, and signal transduction pathways. In order to identify *SnRK2* gene family members in *Ipomoea trifida* and speculate on their functions, in this study, using bioinformatics methods, *ItfSnRK2* gene family members were screened and identified through blasting with the protein sequences of SnRK2 in *Arabidopsis thaliana*. And then the characteristics of each member were analyzed and their expression profiles in different tissues and under abiotic stress using transcriptome data were examined. The results revealed that there were seven *ItfSnRK2* genes in *Ipomoea trifida*, all of which contained conserved kinase domains and regulatory domains. These genes were located on six different chromosomes and were named as *ItfSnRK2.1~ItfSnRK2.7* based on chromosome arrangement order, and they could be divided into three subfamilies according to the evolutionary tree analysis results. Gene structure analysis showed that members of the same subfamily had similar gene structure and conserved motif composition. Expression profile analysis showed that *ItfSnRK2* genes had tissue-specific expression patterns, and expression of *ItfSnRK2.2*, *ItfSnRK2.3*, *ItfSnRK2.4*, and *ItfSnRK2.5* was induced by abiotic stress, possibly related to resistance regulation. The results of this study would provide important clues for further understanding the specific functions of *SnRK2* gene in the stress response and signal transduction of sweet potato, and also provide potential gene resources for the improvement of sweet potato stress resistance.

**Key words:** *Ipomoea trifida*; *SnRK2* gene family identification; bioinformatics analysis

干旱、寒冷、盐碱等环境胁迫会对植物的生长发育带来严重影响<sup>[1]</sup>, 而可逆蛋白磷酸化是植物细

胞内发生的抵抗胁迫反应的重要方式<sup>[2-3]</sup>。研究发现, SnRK 是广泛存在于植物中的丝氨酸/苏氨酸蛋

收稿日期: 2024-01-29

基金项目: 山西省“1331工程”重点学科建设计划经费(1331KSC); 山西省高校科技创新项目(2021L523, 2023L332)

作者简介: 董静静(1986-), 女, 山西长治人, 讲师, 博士, 主要从事植物次生代谢调控机理研究工作。

通信作者: 赵青松(1983-), 男, 山西泽州人, 副教授, 博士, 主要从事植物次生代谢产物分析研究工作。

白激酶<sup>[4-6]</sup>,在植物胁迫信号转导通路中发挥了关键作用<sup>[6]</sup>。基于序列相似性、特征结构域以及代谢作用,*SnRK*被细分为3个亚家族:*SnRK1*、*SnRK2*和*SnRK3*<sup>[7]</sup>。与*SnRK1*不同,*SnRK2*和*SnRK3*仅在植物中存在,其中,*SnRK2*可将底物磷酸化,从而调节下游基因或转录因子的表达,在盐、干旱、低温胁迫以及种子萌发、果实成熟等过程中发挥了至关重要的作用。自小麦中发现了第1个*SnRK2*(*PKABA1*)基因以来<sup>[3]</sup>,*SnRK2*基因家族已在多个物种中进行了鉴定和全面分析,包括拟南芥<sup>[7]</sup>、草莓<sup>[8]</sup>、土豆<sup>[9]</sup>、棉花<sup>[10]</sup>、烟草<sup>[11]</sup>、地钱<sup>[12]</sup>、甜瓜<sup>[13]</sup>等。FUJII等<sup>[14]</sup>分离得到了*SnRK2.2*单突变拟南芥以及*SnRK2.2/SnRK2.3*双突变的拟南芥,发现双突变体试验株对脱落酸高度敏感,经脱落酸处理后,双突变体试验组表现出明显的生长抑制。当拟南芥暴露于盐胁迫时,*AtSnRK2.10*被诱导表达,它通过维持有效的光合作用和防止氧化损伤提高植物的抗盐性<sup>[15]</sup>。*AtSnRK2.10*还可通过与WRKY转录因子共同作用,参与调控非生物胁迫过程<sup>[16]</sup>。MAO等<sup>[17]</sup>通过在拟南芥中过量表达小麦*TaSnRK2.4*并获得转基因植株,转基因植株在抗盐、抗干旱以及抗冻害方面的表现均优于对照组。枸橼*PtrSnRK2.4*介导了*PtrABF2*的磷酸化过程,并通过促进腐胺合成,在植物抗旱性中发挥了积极作用<sup>[18]</sup>。在苹果中,*MdERDL6-1*可诱导*MdSnRK2.3*的表达,通过对*MdAREB1.1/MdAREB1.2*的磷酸化提高*MdTST1/MdTST2*的转录活性,共同调节果实中可溶性糖的积累<sup>[19]</sup>。

甘薯(*Ipomoea batatas*(L.)Lam)又名红薯、山芋,是旋花科的一种双子叶植物,世界第七大粮食作物,被认为是一种新型生物能源作物。干旱和盐等胁迫限制了甘薯的产量,但其响应非生物胁迫的机制尚不清楚。截至目前,甘薯*SnRK*基因的研究报道较少,主要集中在*SnRK1*在氮素吸收、碳同化和非生物胁迫响应的研究<sup>[20-21]</sup>。甘薯是六倍体( $2n=6x=90$ ),由于甘薯复杂且高度杂合的遗传背景,其农艺性状的改良受到限制<sup>[22]</sup>,使得研究人员对甘薯农艺性状的研究存在较大困难。

有研究表明,在番薯属的700个左右物种之中,二倍体三浅裂野牵牛(*Ipomoea trifida*,  $2N=2x=30$ )与甘薯的亲缘关系最近。故本研究对三浅裂野牵牛*SnRK2*基因家族进行了全面探讨,并分析了它们在不同组织中以及非生物胁迫下的表达谱,旨在为进一步阐明甘薯抗逆性机理提供理论基础,同

时也为甘薯抗性品种的选育提供遗传基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 *ItfSnRK2*基因家族的鉴定及其蛋白理化性质分析

*I. trifida*基因组序列和注释文件来自于密歇根州立大学建立的甘薯资源库(Sweetpotato Genomics Resource, <http://sweetpotato.plantbiology.msu.edu/>)<sup>[23]</sup>。利用BioEdit软件,用拟南芥*SnRK2*蛋白序列在三浅裂野牵牛*SnRK2*蛋白数据中Blast,将E=0作为筛选标准<sup>[24]</sup>,获得候选序列。利用在线程序CD-Search (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi/>)和Pfam (<https://pfam.xfam.org/>)验证各候选序列是否存在蛋白激酶作用结构域<sup>[25]</sup>。在基因组序列数据中得到*ItfSnRK2*各成员的序列信息,包括氨基酸序列、DNA序列、CDS序列,并基于gff文件,利用TBtools软件提取*ItfSnRK2*基因启动子序列,进行后续的深入分析。使用EXPASY Proteomics Server (<https://web.expasy.org/protparam/>)在线工具<sup>[26]</sup>对*ItfSnRK2*蛋白质的理化性质进行分析,包括氨基酸数、分子量(Molecular weight)和等电点(Isoelectric point, pI)等。

### 1.2 氨基酸序列比对

在Phytozome11.0数据库(<http://phytozome.jgi.doe.gov/pz/portal.html#>)中下载10个拟南芥*SnRK2*蛋白序列,采用DNAMAN软件对*AtSnRK2*和*ItfSnRK2*蛋白序列的保守结构域进行分析。

### 1.3 系统进化分析

在Genbank数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)中分别下载10个水稻OsSAPK、8个马铃薯*StSnRK2*和9个辣椒*CaSnRK2*蛋白序列<sup>[9,27-28]</sup>。利用MEGA 7.0构建三浅裂野牵牛、拟南芥、水稻、马铃薯、辣椒*SnRK2*蛋白的系统进化树,MEGA提供ClustalW和Muscle共2种多序列比对方法,选用ClustalW方法,采用Neighbor Joining(邻接法)构建系统进化树,Bootstrap重复值为1000。

### 1.4 染色体定位分析

通过解析gff文件,获取*ItfSnRK2*各成员在染色体上的相对位置信息。利用TBtools<sup>[29]</sup>软件进行可视化,并根据染色体定位结果对*ItfSnRK2*基因家族成员进行命名。

### 1.5 基因结构、保守结构域分析

使用TBtools中的Amazing Optional Gene Viewer功能对基因的结构进行分析。使用在线基

序比对和搜索工具 MEME (<https://meme-suite.org/meme/>) 分析 *ItfSnRK2* 中的保守基序。基序的数目设置为 10, 其他参数为系统默认<sup>[23]</sup>。

### 1.6 启动子顺式作用元件分析

为了分析 *ItfSnRK2* 启动子的顺式作用元件, 利用 TBtoolst 提取 *ItfSnRK2* 基因起始密码子 (ATG) 上游的 2 000 bp 序列。在 PlantCARE 数据库 (<http://bioinforma-tics.psb.agenb.be/webto-ols/plant-care/html/>) 预测顺式作用元件。使用 Microsoft Office Excel 2019 软件对数据进行处理, 利用 TBtools 进行可视化。

### 1.7 组织特异性表达分析和非生物胁迫下的表达分析

在甘薯资源库中下载不同组织 (花的愈伤组织 FC、茎的愈伤组织 SC、花 Flower、花苞 Flower bud、叶 leaf、根 Root)、不同非生物胁迫 (冷胁迫 Cold、热胁迫 Heat、干旱胁迫 Drought、盐胁迫 NaCl) 和脱落酸激素处理的转录组数据, 采用 TBtools 对 7 个 *ItfSnRK2* 基因以 FPKM 取  $\text{Log}_2$  值并绘制热图。

## 2 结果与分析

### 2.1 *ItfSnRK2* 基因家族的染色体定位与编码蛋白的理化性质分析

使用拟南芥 *SnRK2* 基因家族的蛋白序列在三裂野牵牛数据库中进行 BLASTP 比对, 共鉴定到 7 个 *ItfSnRK2* 家族成员。基于染色体定位分析的

结果, 将它们依次命名为 *ItfSnRK2.1*~*ItfSnRK2.7*<sup>[30]</sup>, 7 个 *ItfSnRK2* 基因位于在三裂野牵牛的 6 条染色体上, 其中第 1、5、9、12、13 号染色体上均包含 1 个 *ItfSnRK2* 基因, 第 10 号染色体上分布 2 个 *ItfSnRK2* 基因 (图 1)。

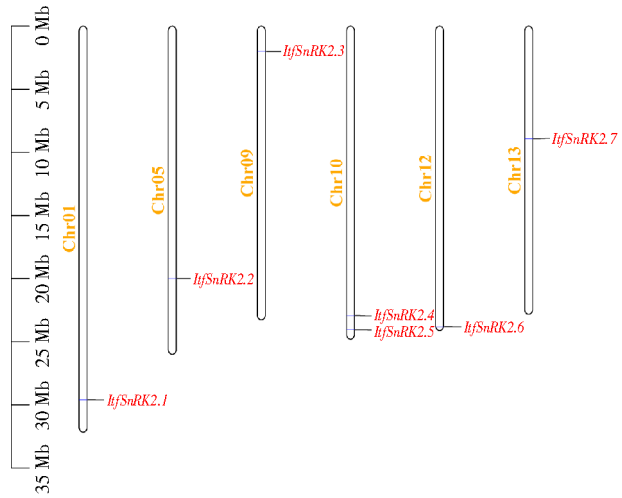


图 1 *ItfSnRK2* 基因的染色体定位分析  
Fig.1 Chromosomal locations analysis of the *ItfSnRK2* genes

由理化性质分析结果可知 (表 1), *ItfSnRK2* 各成员的氨基酸数目介于 337~364 个, 分子质量介于 38 414.93~41 993.41 u, 均为酸性、亲水性蛋白 ( $\text{pI} < 7.0$ , 脂溶指数  $< 100$ )。此外, *ItfSnRK2.2*、*ItfSnRK2.3*、*ItfSnRK2.4*、*ItfSnRK2.6* 为不稳定蛋白; 而 *ItfSnRK2.1*、*ItfSnRK2.5*、*ItfSnRK2.7* 为稳定蛋白。

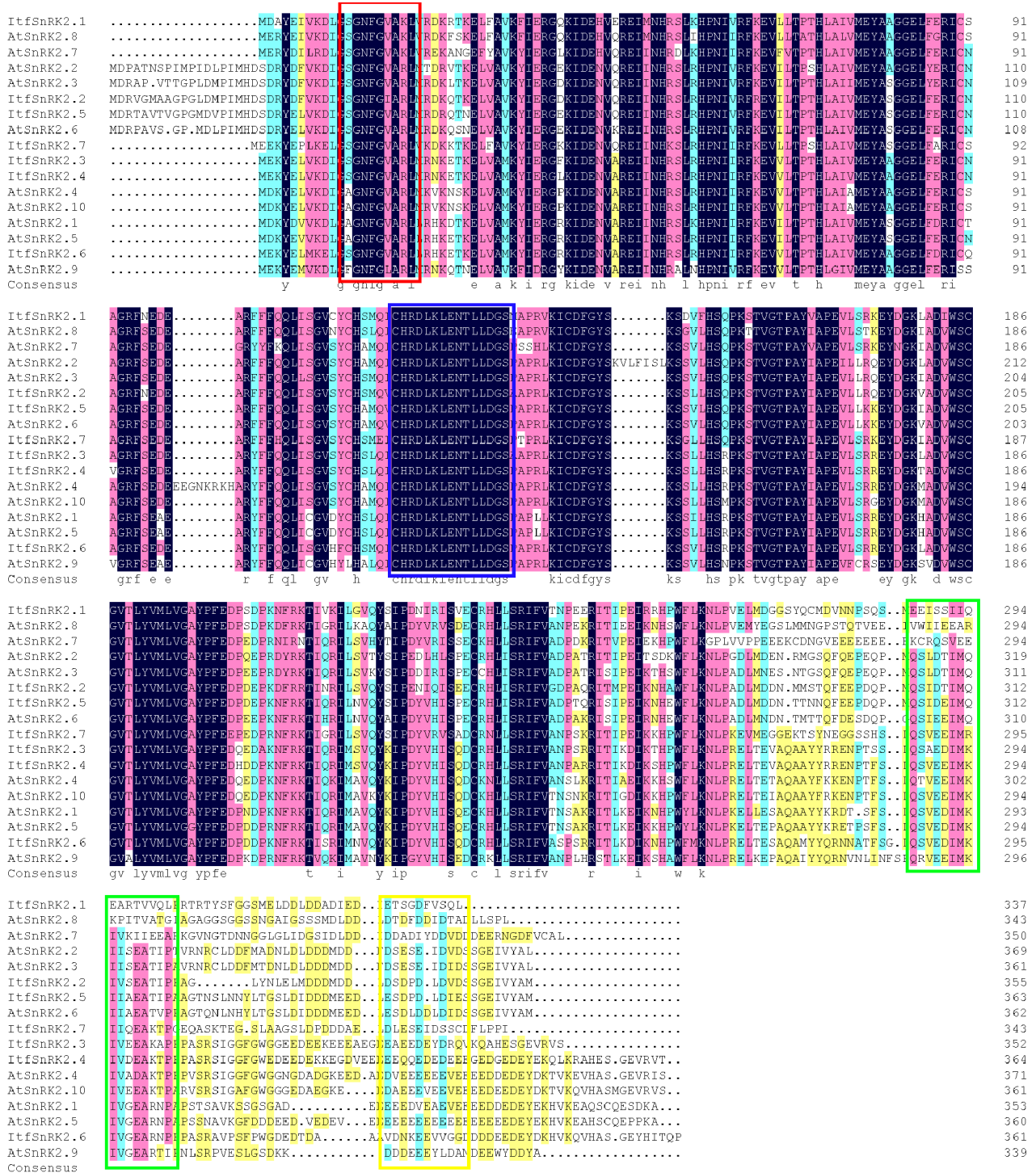
表 1 *ItfSnRK2* 蛋白的理化性质分析  
Tab.1 The physicochemical properties of *ItfSnRK2* proteins

基因名称 Gene name	基因 ID Gene ID	氨基酸数目/个 Number of amino acids	分子质量/u Molecular weight	等电点 pI	不稳定指数 Instability index	脂溶指数 Aliphatic index
<i>ItfSnRk2.1</i>	itf01g31640.t1	337	38 414.93	5.47	38.24	87.00
<i>ItfSnRk2.2</i>	itf05g17550.t1	355	40 322.84	4.72	41.49	86.23
<i>ItfSnRk2.3</i>	itf09g04100.t1	352	40 271.66	5.90	49.10	80.91
<i>ItfSnRk2.4</i>	itf10g22050.t1	364	41 993.41	5.34	51.08	79.26
<i>ItfSnRk2.5</i>	itf10g24450.t1	363	41 146.57	4.76	34.53	88.07
<i>ItfSnRk2.6</i>	itf12g27280.t1	362	41 419.02	6.29	45.02	78.37
<i>ItfSnRk2.7</i>	itf13g07510.t1	343	38 577.03	5.93	38.49	84.99

### 2.2 *ItfSnRK2* 氨基酸序列比对

使用 DNAMAN 进行多序列比对, 结果显示 (图 2), *ItfSnRK2* 各成员与拟南芥 *AtSnRK2* 的氨基酸序列呈现出较高的相似性, 说明 *ItfSnRK2* 的序列具有高度的保守性。由图 2 可知, *SnRK2* 的蛋白序列具备典型的保守特征结构域, 包括 N 端的激酶结构域和 C 端的调节结构域; N 端的激酶结构域高

度保守, 包含 ATP 结合结构域 (图 2 中用红色框标示) 和丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶的活性位点 (图 2 中用蓝色框标示); 而 C 端区域非常分散, 包含了响应非生物胁迫的结构域 (图 2 中用绿色框标示) 和 ABA 诱导调节结构域 (图 2 中用黄色框标示)。这些结构域的存在为 *SnRK2* 在生物学功能上的多样性和复杂性提供了结构基础。



红色框表示ATP结合域;蓝色框表示丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶活性位点;绿色框表示响应非生物胁迫结构域;黄色框表示ABA诱导调节结构域  
The red box represented ATP-binding domain; The blue box represented the active site of serine/threonine protein kinase; The green box represented abiotic stress response domain; The yellow box represented ABA-inducible regulatory domain

图2 ItfSnRK2和AtSnRK2的多序列比对分析  
Fig.2 Multiple sequence alignment of the ItfSnRK2 and AtSnRK2

### 2.3 系统进化分析

为了进一步研究ItfSnRK2蛋白和其他植物物种中蛋白质之间的进化关系,采用Neighbor Joining法(邻接法)对三浅裂野牵牛ItfSnRK2和拟南芥、水稻、马铃薯和辣椒SnRK2蛋白构建系统进化树,

结果如图3所示;参照Hrabak等对拟南芥AtSnRK2的分类<sup>[4]</sup>,图中涉及到的SnRK2序列可分为3个亚族(I、II和III)。其中,ItfSnRK2蛋白在亚族I中有3个成员,分别是ItfSnRK2.3、ItfSnRK2.4、ItfSnRK2.6;亚族II中有2个成员组成,分别是ItfSnRK2.1、

ItfSnRK2.7; 亚族 III 有 2 个成员, 分别是 ItfSnRK2.2、 ItfSnRK2.5。

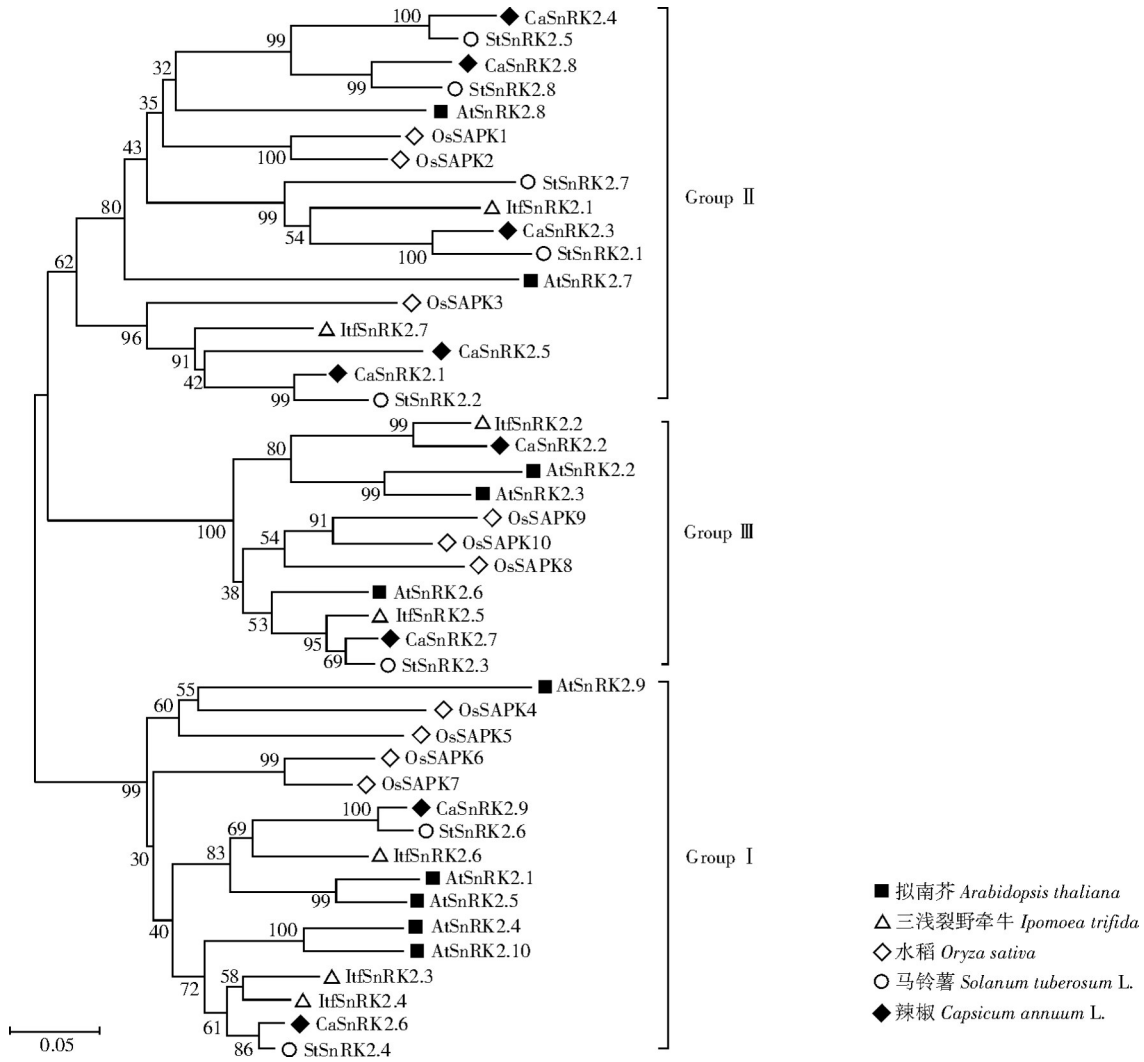


图 3 SnRK2 蛋白系统进化分析  
Fig.3 Phylogenetic analysis of SnRK2 proteins

2.4 基因结构、保守结构域分析

通过 Ttools 分析 ItfSnRK2 的外显子/内含子结构, 结果表明(图 4), 三浅裂野牵牛 SnRK2 成员

均含有 9 个外显子; 除 ItfSnRK2.5 和 ItfSnRK2.7 含有 9 个内含子外, 其他的 ItfSnRK2 成员都含有 8 个内含子。

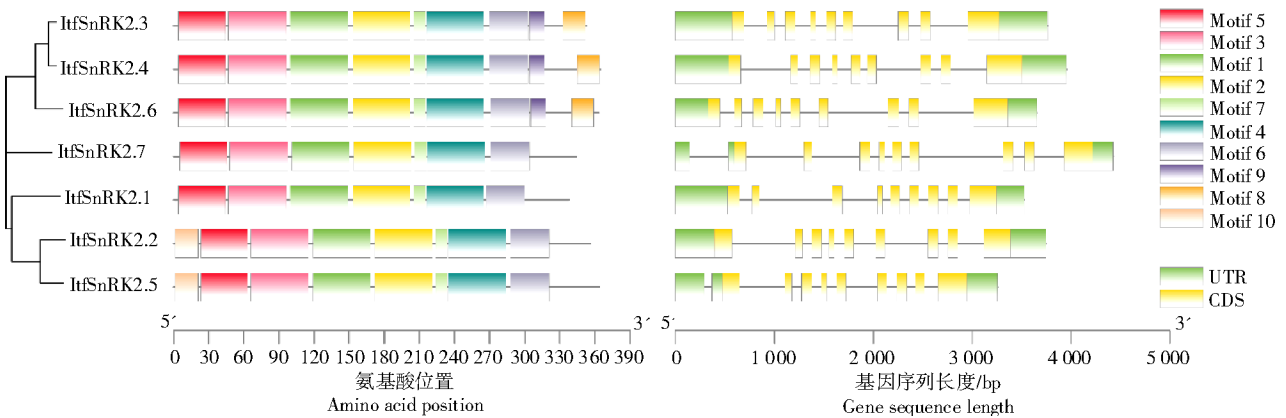


图 4 ItfSnRK2 保守基序 (左) 和基因结构 (右)  
Fig.4 The structure of conservative motif (left) and the gene structure (right) of ItfSnRK2

使用 MEME 预测了 *SnRK2* 蛋白的 10 个保守基序。由图 4 可知,各亚族成员的保守基序组成相似;利用 MEME 工具对 *ItfSnRK2* 蛋白序列的保守基序进行预测,结果显示,各亚族成员的保守基序组成具有较高的相似性。7 个 *ItfSnRK2* 成员均存在 Motif 1~Motif 7,而值得注意的是,Group I 的 3 个基因均含有 Motif 8 和 Motif 9;Group II 中亲缘关系更近的 2 个基因 *ItfSnRK2.2* 和 *ItfSnRK2.5* 在 5'

端含有 Motif 10。

## 2.5 顺式作用元件分析

为了更好地研究 *ItfSnRK2* 基因的功能,利用 PlantCARE 在线工具对 *ItfSnRK2* 基因启动子区域内的顺式作用元件进行了分析,结果显示(图 5),三浅裂野牵牛 *SnRK2* 基因家族存在不同种类的顺式作用元件,主要包括 16 种光响应元件,8 种激素响应元件和 5 种应激相关元件。

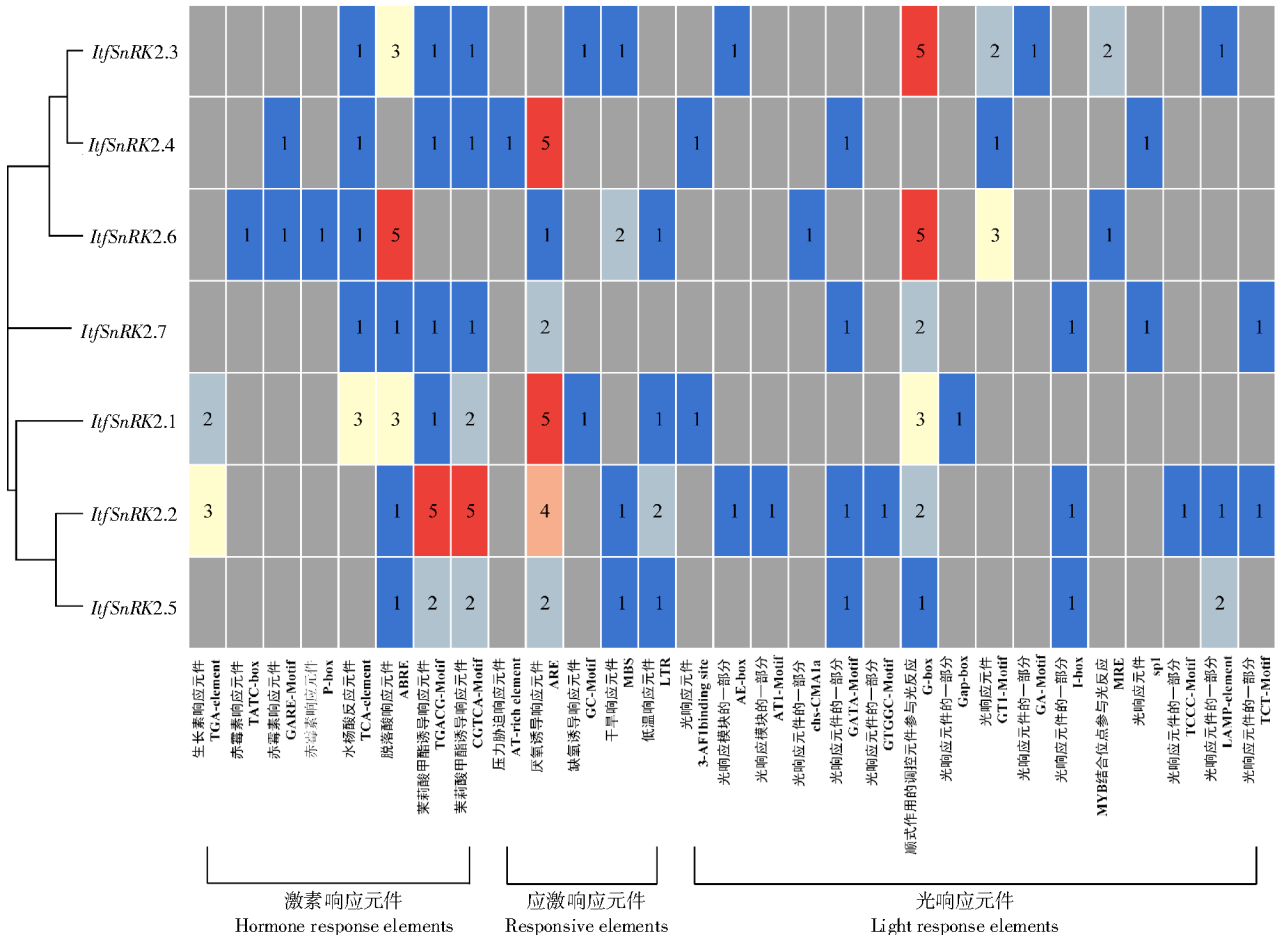


图 5 *ItfSnRK2* 基因家族成员顺式作用元件分析  
Fig.5 *Cis-acting elements analysis of ItfSnRK2 gene family members*

激素响应元件中,6 个 *ItfSnRK2* 成员(除 *ItfSnRK2.4* 外)的启动子上均含有多个脱落酸响应元件(ABRE)。茉莉酸甲酯诱导响应元件(TGACG-Motif 和 CGTCA-Motif)在 6 个 *ItfSnRK2* 成员(除 *ItfSnRK2.6* 外)的启动子上都存在。5 个成员的启动子上均含有水杨酸反应元件(TCA-element)。另外,还鉴定到生长素响应元件(TGA-element)、赤霉素响应元件(TATC-box, P-box, GARE-Motif)。

所有成员中均含有 1 种或多种应激相关元件,厌氧诱导响应元件(ARE)数量相对较多,除 *ItfSnRK2.3* 外的 6 个成员均含有;其次,在各成员启

动子序列中还鉴定到缺氧诱导响应元件(GC-motif)、干旱响应元件(MBS)、低温响应元件(LTR)和压力胁迫响应元件(AT-rich element);另外, *ItfSnRK2* 所有成员中均含有 1 种或多种光响应元件。结果说明, *ItfSnRK2* 成员可能参与激素和应激反应的调控。

## 2.6 *ItSnRK2* 家族基因的表达谱分析

为研究三浅裂野牵牛 *SnRK2* 家族基因在花的愈伤组织、茎的愈伤组织、花、花苞、叶、根中的表达谱,以 FPKM 取 Log<sub>2</sub> 值后作图,结果如图 6-A 所示,所有成员均在 1 个或多个组织中表达,其中,

*ItfSnRK2.2*、*ItfSnRK2.3*、*ItfSnRK2.4* 在所有组织中表达量均较高, *ItfSnRK2.7* 在各组织中表达量均

较低。

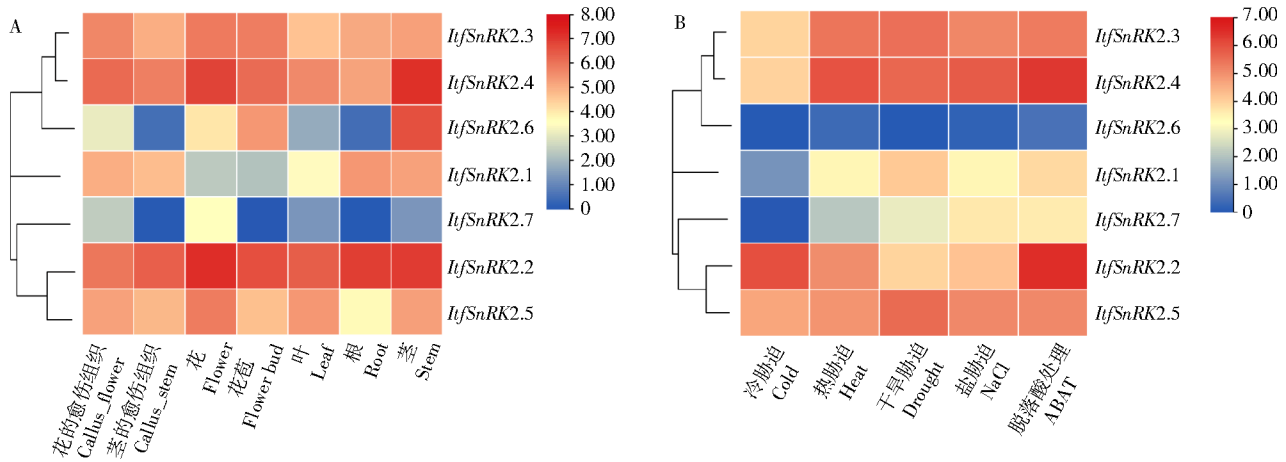


图 6 *ItfSnRK2* 基因的组织特异性表达热图 (A) 和非生物胁迫处理下的表达谱 (B)  
Fig.6 Heatmap of tissue-specific expression of *ItfSnRK2* gene (A) and expression profile under abiotic stress (B)

如图 6-B 所示, *ItfSnRK2.5* 在各种胁迫下表达量均较高, *ItfSnRK2.2* 显著地响应了冷胁迫和 ABA 胁迫的诱导; *ItfSnRK2.1* 和 *ItfSnRK2.7* 在 5 种胁迫处理下的表达量均呈现较低水平; *ItfSnRK2.3* 和 *ItfSnRK2.4* 在除了冷胁迫之外的 4 种胁迫处理下的表达量较高; 而 *ItfSnRK2.6* 在 5 种胁迫处理下几乎不表达。说明植物在处于非生物胁迫逆境时, 部分 *ItfSnRK2* 基因表达量提高, 有利于植物响应胁迫从而更好地适应环境, 但具体的调控机理目前尚未研究清楚。

### 3 结论与讨论

#### 3.1 *ItfSnRK2* 成员的鉴定以及序列特征分析

目前, 许多学者已经在拟南芥<sup>[7]</sup>、甜瓜<sup>[13]</sup>、烟草<sup>[11]</sup>等多个物种中鉴定了 *SnRK2* 基因家族, 它们是植物中普遍存在的一种蛋白激酶, 与植物的生长发育息息相关。本研究在三裂野牵牛的全基因组中鉴定到 7 个 *SnRK2* 成员。 *ItfSnRK2* 基因家族成员编码的氨基酸残基数为 334~364 个, 蛋白的分子质量在 40 kD 左右, 7 个 *ItfSnRK2* 蛋白的等电点都小于 7, 都为酸性, 且均为亲水性蛋白, 这一结果与甜菜 (*Beta vulgaris* L.) *SnRK2* 基因家族的蛋白质理化性质的研究结果相似<sup>[25]</sup>。

多序列比对结果表明, *ItfSnRK2* 的蛋白序列高度保守, 且均具有典型的 N 端激酶结构域和 C 端调控结构域, 包含 ATP 结合结构域、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶的活性位点和 ABA 诱导调节结构域等, 这一结果与在薄壳山核桃中的研究结果一致<sup>[31]</sup>。

已有研究发现, C 端的保守结构域与 ABA 信号感知有关<sup>[6]</sup>。

*ItfSnRK2* 各成员的序列分析结果表明, 同一亚族的 *ItfSnRK2* 成员, 其蛋白序列的保守基序相似, 且基序位置及排列顺序都十分相似。通常, 相似的外显子/内含子和保守基序分布模式意味着它们具有相似的功能<sup>[32]</sup>。但在物种的进化过程中, 还会发生其他事件, 如基因复制, 可能会导致基因功能的分化<sup>[33]</sup>。Motif 8 和 Motif 9 仅存在亚族 I 的 3 个成员中, 而 Motif 10 仅在亚族 III 的成员中出现, 这些独特的保守基序可能与 *ItfSnRK2* 的功能密切相关。因此, 进一步深入研究这些保守基序的具体作用与功能十分必要。

#### 3.2 *ItfSnRK2* 成员在植物非生物胁迫响应中的潜在功能

在辣椒中, 启动子上不同的顺式作用元件可能会造成基因的不同表达模式<sup>[34]</sup>。在 *ItfSnRK2* 各成员的启动子上共鉴定到 29 种不同的作用元件, 主要包括 16 种光响应元件、8 种激素响应元件和 5 种应激相关元件。不同的启动子顺式作用元件组成可能是各成员在转录水平上发挥不同功能的原因之一<sup>[35]</sup>。

研究发现, *SnRK2* 在生物和非生物胁迫下被激活<sup>[30]</sup>。第 I 亚族的 3 个成员中, *ItfSnRK2.6* 在茎和花苞中的表达量相对较高, 但在叶和根中的表达量相对较低; 而 *ItfSnRK2.3* 和 *ItfSnRK2.4* 在各组织中的表达量均相对较高。虽然 *ItfSnRK2.6* 的启动子上存在多个 ABRE 元件, 但其在脱落酸处理下并不表达

或表达量较低,且在其他的几种胁迫下表达量也均较低,可能与 *ItfSnRK2.6* 的组织特异性表达有关。由非生物胁迫下的表达谱分析结果可知,*ItfSnRK2.3*、*ItfSnRK2.4* 在冷胁迫、热胁迫、干旱胁迫和脱落酸处理下均有较高的表达量,它们的启动子上均鉴定到多种激素和应激响应元件,如 ABRE 和 ARE 等。

而第 II 亚族 (*ItfSnRK2.1*、*ItfSnRK2.7*) 的 2 个成员中,*ItfSnRK2.1* 在根和茎中的表达量相对高于叶,*ItfSnRK2.7* 在三浅裂野牵牛各组织中的表达量均较低,它们在各种胁迫处理下的表达量也都较低。*ItfSnRK2.7* 启动子上应激响应类元件中只存在 2 个厌氧诱导响应元件,*ItfSnRK2.1* 存在 5 个厌氧诱导响应元件,1 个缺氧诱导响应元件和 1 个低温胁迫元件。推测不同的顺式作用元件与它们在非生物胁迫下的低表达情况有一定关系。

第 III 亚族 (*ItfSnRK2.2*、*ItfSnRK2.5*) 成员在各组织以及各胁迫处理下均有较高的表达量。它们的启动子上存在应激响应元件 (MBS 和 LRT 等)。因此,推测 4 个成员 (*ItfSnRK2.2*、*ItfSnRK2.5*、*ItfSnRK2.3* 和 *ItfSnRK2.4*) 可能参与调控了非生物胁迫过程。

根据系统进化关系可知,*ItfSnRK2.3*/*ItfSnRK2.4* 与 *StSnRK2.4*、*AtSnRK2.4* 的进化关系接近,结合已发现的过表达 *AtSnRK2.4* 拟南芥在萌发期及萌发后,对盐胁迫的耐受性得到了显著提升<sup>[36]</sup>;而 *StSnRK2.4* 的表达量随盐胁迫处理时间延长呈现出先增后减的趋势,且在处理 2 h 时达到峰值<sup>[9]</sup>。且表达谱分析发现,*ItfSnRK2.3* 和 *ItfSnRK2.4* 响应了盐胁迫,推测 *ItfSnRK2.3* 和 *ItfSnRK2.4* 可能与 *I. tridifa* 的耐盐性相关。此外,*AtSnRK2.2*/*AtSnRK2.3*/*AtSnRK2.6* 蛋白激酶可被渗透、盐、冷和 ABA 处理激活,过表达 *AtSnRK2.6* 可提高转基因拟南芥的种子产量<sup>[37]</sup>;另外,*AtSnRK2.6* 在 ABI5-FLC 推迟开花的机制中也发挥了重要作用<sup>[38]</sup>。因此,与 *AtSnRK2.2*/*AtSnRK2.3*/*AtSnRK2.6* 进化关系接近的 *ItfSnRK2.2* 和 *ItfSnRK2.5* 可能在植物生长发育和胁迫响应中也发挥了重要作用,值得深入研究。

综上,本研究在三浅裂野牵牛全基因组水平上分析了 *SnRK2* 基因家族,共鉴定到 7 个 *ItfSnRK2* 基因,分布在 6 条不同的染色体上,被分为 3 个亚族。*ItfSnRK2* 基因启动子区含有光响应、激素响应和应激相关元件,且数量不同。在 7 个成员中,*ItfSnRK2.2*、*ItfSnRK2.3*、*ItfSnRK2.4* 和 *ItfSnRK2.5* 的表达受非生物胁迫诱导,可能与抗性调节有关,

该结果为后续深入研究提供了依据和参考。

#### 参考文献:

- [1] ZHANG H M, ZHU J H, GONG Z Z, et al. Abiotic stress responses in plants[J]. Nature Reviews. Genetics, 2022, 23(2): 104-119.
- [2] 毛英杰. 盐生牧草小花碱茅 (*Puccinellia tenuiflora*)  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  应答可逆磷酸化蛋白质调控网络解析[D]. 上海: 上海师范大学, 2022.
- [3] MAO Y J. Analysis of regulatory network of reversible phosphorylated proteins in *Puccinellia tenuiflora* in response to  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ [D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2022.
- [4] 刘子茜, 朱雅欣, 伍国强, 等. *SnRK2* 在植物响应逆境胁迫和生长发育中的作用[J]. 生物工程学报, 2022, 38(1): 89-103.
- [5] LIU Z X, ZHU Y X, WU G Q, et al. The role of *SnRK2* in the response to stress, the growth and development of plants[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2022, 38(1): 89-103.
- [6] HASAN M M, LIU X D, WASEEM M, et al. ABA activated *SnRK2* kinases: an emerging role in plant growth and physiology [J]. Plant Signaling & Behavior, 2022, 17(1): 2071024.
- [7] SON S, PARK S R. The rice *SnRK* family: biological roles and cell signaling modules[J]. Frontiers in Plant Science, 2023, 14: 1285485.
- [8] 李娜, 张文玉, 孙纲, 等. 植物 *SnRK2* 基因家族的研究进展[J]. 中国农学通报, 2023, 39(30): 108-113.
- [9] LI N, ZHANG W Y, SUN G, et al. *SnRK2* gene family in plants: a review[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2023, 39(30): 108-113.
- [10] HRABAK E M, CHAN C W M, GRIBSKOV M, et al. The *Arabidopsis* CDPK-*SnRK* superfamily of protein kinases[J]. Plant Physiology, 2003, 132(2): 666-680.
- [11] HAN Y, DANG R H, LI J X, et al. Sucrose nonfermenting1-related protein kinase2.6, an ortholog of open stomata1, is a negative regulator of strawberry fruit development and ripening[J]. Plant Physiology, 2015, 167(3): 915-930.
- [12] BAI J P, MAO J, YANG H Y, et al. Sucrose non-ferment 1 related protein kinase 2 (*SnRK2*) genes could mediate the stress responses in potato (*Solanum tuberosum* L.) [J]. BMC Genetics, 2017, 18(1): 41.
- [13] LIU Z, GE X Y, YANG Z R, et al. Genome-wide identification and characterization of *SnRK2* gene family in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. BMC Genetics, 2017, 18(1): 54.
- [14] 白戈, 杨大海, 费明亮, 等. 烟草 *SnRK2* 基因家族的克隆及表达分析[J]. 分子植物育种, 2024, 22(12): 3877-3884.
- [15] BAI G, YANG D H, FEI M L, et al. Cloning and expression analysis of tobacco *SnRK2* gene family[J]. Molecular Plant Breeding, 2024, 22(12): 3877-3884.
- [16] 江春雪. 地钱 *SnRK2* 家族基因的鉴定与功能分析[D]. 重庆: 西南大学, 2021.
- [17] JIANG C X. Identification and function characterization of *SnRK2* family in *Marchantia polymorpha* [D]. Chongqing: Southwest University, 2021.
- [18] 刘成功, 李壑, 韩子超, 等. 甜瓜 *SnRK2* 基因家族的鉴定与特征分析[J]. 河南农业科学, 2022, 51(5): 108-116.
- [19] LIU C G, LI H, HAN Z C, et al. Identification and characterization of *SnRK2* gene family in melon [J]. Journal of Henan

- Agricultural Sciences, 2022, 51(5): 108-116.
- [14] FUJII H, VERSLUES P E, ZHU J K. Identification of two protein kinases required for abscisic acid regulation of seed germination, root growth, and gene expression in *Arabidopsis*[J]. The Plant Cell, 2007, 19(2): 485-494.
- [15] MAZUR R, MASZKOWSKA J, ANIELSKA-MAZUR A, et al. The SnRK2.10 kinase mitigates the adverse effects of salinity by protecting photosynthetic machinery[J]. Plant Physiology, 2021, 187(4): 2785-2802.
- [16] RACHOWKA J, ANIELSKA-MAZUR A, BUCHOLC M, et al. SnRK2.10 kinase differentially modulates expression of hub WRKY transcription factors genes under salinity and oxidative stress in *Arabidopsis thaliana*[J]. Frontiers in Plant Science, 2023, 14: 1135240.
- [17] MAO X G, ZHANG H Y, TIAN S J, et al. TaSnRK2.4, an SNF1-type serine/threonine protein kinase of wheat (*Triticum aestivum* L.), confers enhanced multistress tolerance in *Arabidopsis*[J]. Journal of Experimental Botany, 2010, 61(3): 683-696.
- [18] SONG J, SUN P P, KONG W N, et al. SnRK2.4-mediated phosphorylation of ABF2 regulates ARGININE DECARBOXYLASE expression and putrescine accumulation under drought stress[J]. The New Phytologist, 2023, 238(1): 216-236.
- [19] ZHU L C, LI Y Z, WANG C C, et al. The SnRK2.3-AREB1-TST1/2 cascade activated by cytosolic glucose regulates sugar accumulation across tonoplasts in apple and tomato[J]. Nature Plants, 2023, 9(6): 951-964.
- [20] 任志彤. 过表达 *IbCbEFP* 和 *IbSnRK1* 基因甘薯植株的特性鉴定及分子机理分析[D]. 北京: 中国农业大学, 2018.
- REN Z T. Characteristic identification and molecular mechanism of sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) plants overexpressing *IbCbEFP* and *IbSnRK1*[D]. Beijing: China Agricultural University, 2018.
- [21] JIANG T, ZHAI H, WANG F B, et al. Cloning and characterization of a carbohydrate metabolism-associated gene *IbSnRK1* from sweetpotato[J]. Scientia Horticulturae, 2013, 158: 22-32.
- [22] SRISUWAN S, SIHACHAKR D, SILJAK-YAKOVLEV S. The origin and evolution of sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam.) and its wild relatives through the cytogenetic approaches [J]. Plant Science: an International Journal of Experimental Plant Biology, 2006, 171(3): 424-433.
- [23] 姚旭峰, 董静静, 刘世芳, 等. 三裂野牵牛 *MADS-box* 基因家族全基因组鉴定与组织特异性表达分析[J]. 激光生物学报, 2021, 30(3): 223-235.
- YAO X F, DONG J J, LIU S F, et al. Genome-wide identification and tissue-specific expression analysis of *MADS-box* gene family in *Ipomoea trifida*[J]. Acta Laser Biology Sinica, 2021, 30(3): 223-235.
- [24] 许冰霞, 尹美强, 李娜, 等. 谷子 *SnRK2* 家族基因的生物信息分析[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2017, 37(9): 616-621.
- XU B X, YIN M Q, LI N, et al. Identification and bioinformatics analysis of the *SnRK2* gene family of *Setaria italica*[J]. Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition), 2017, 37(9): 616-621.
- [25] WU G Q, LIU Z X, XIE L L, et al. Genome-wide identification and expression analysis of the *BvSnRK2* genes family in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) under salt conditions[J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2021, 40(2): 519-532.
- [26] AYADI M, BEN AYED R, MZID R, et al. Computational approach for structural feature determination of grapevine NHX antiporters[J]. BioMed Research International, 2019, 2019: 1031839.
- [27] SAHA J, CHATTERJEE C, SENGUPTA A, et al. Genome-wide analysis and evolutionary study of sucrose non-fermenting 1-related protein kinase 2 (*SnRK2*) gene family members in *Arabidopsis* and *Oryza*[J]. Computational Biology and Chemistry, 2014, 49: 59-70.
- [28] WU Z M, CHENG J W, HU F, et al. The SnRK2 family in pepper (*Capsicum annuum* L.): genome-wide identification and expression analyses during fruit development and under abiotic stress[J]. Genes & Genomics, 2020, 42(10): 1117-1130.
- [29] CHEN C J, CHEN H, ZHANG Y, et al. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data[J]. Molecular Plant, 2020, 13(8): 1194-1202.
- [30] WAN Z L, LUO S L, ZHANG Z Y, et al. Identification and expression profile analysis of the SnRK2 gene family in cucumber[J]. PeerJ, 2022, 10: e13994.
- [31] 马文娟, 朱凯凯, 谌梦云, 等. 薄壳山核桃 *SnRK2* 基因家族鉴定及表达分析[J]. 植物资源与环境学报, 2023, 32(2): 18-28, 46.
- MA W J, ZHU K K, CHEN M Y, et al. Identification and expression analysis of *SnRK2* gene family from *Carya illinoensis*[J]. Journal of Plant Resources and Environment, 2023, 32(2): 18-28, 46.
- [32] NIU T Z, WANG X, ABBAS M, et al. Expansion of *CONSTANS-like* genes in sunflower confers putative neofunctionalization in the adaptation to abiotic stresses[J]. Industrial Crops and Products, 2022, 176: 114400.
- [33] LI J J, LI X, HAN P, et al. Genome-wide investigation of *bHLH* genes and expression analysis under different biotic and abiotic stresses in *Helianthus annuus* L.[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 189: 72-83.
- [34] ISLAM S, SAJIB S D, JUI Z S, et al. Genome-wide identification of glutathione S-transferase gene family in pepper, its classification, and expression profiling under different anatomical and environmental conditions[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 9101.
- [35] YANG J H, ZHANG B H, GU G, et al. Genome-wide identification and expression analysis of the *R2R3-MYB* gene family in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) [J]. BMC Genomics, 2022, 23(1): 432.
- [36] ZHANG X X, WU S, LIU S K, et al. The *Arabidopsis* sucrose non-fermenting-1-related protein kinase AtSnRK2.4 interacts with a transcription factor, AtMYB21, that is involved in salt tolerance[J]. Plant Science, 2021, 303: 110685.
- [37] CHEN K, LI G J, BRESSAN R A, et al. Abscisic acid dynamics, signaling, and functions in plants[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2020, 62(1): 25-54.
- [38] CUTLER S R, RODRIGUEZ P L, FINKELSTEIN R R, et al. Abscisic acid: emergence of a core signaling network[J]. Annual Review of Plant Biology, 2010, 61: 651-679.