

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2026.07.001

周弦, 王靖, 李庚燃, 等. 生姜 *ZoSnRK* 基因家族鉴定及非生物胁迫响应特性研究 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2026, 48(7): 1-18.

生姜 *ZoSnRK* 基因家族鉴定及 非生物胁迫响应特性研究

周弦¹, 王靖¹, 李庚燃¹, 刘亿静¹,
吴艳碧¹, 代怡昕¹, 孙冲², 张雪梅¹

- 长江大学 园艺园林学院/香辛园艺植物种质创新与利用湖北省重点实验室/
湖北省生姜脱毒种姜快速繁育研发中心, 湖北 荆州 434025;
- 重庆文理学院 智慧农业学院/特色植物研究院, 重庆 402160

摘要: 蔗糖非发酵相关蛋白激酶(Sucrose Non-fermenting 1-Related Protein Kinase, SnRK)在植物抵御非生物胁迫过程中发挥关键的调控作用。生姜作为重要经济作物,常遭受高盐、水涝等逆境胁迫,然而其 SnRK 基因家族的功能尚未得到系统解析。因此,本研究对生姜 *ZoSnRK* 基因家族进行了全基因组鉴定,并系统分析了其分子特征、进化关系及在盐、涝胁迫下的表达模式与潜在功能。结果表明:生姜中共有 54 个 *ZoSnRK* 基因,可分为 SnRK1(4 个)、SnRK2(14 个)和 CIPK(36 个)3 个亚家族,其编码蛋白的氨基酸长度为 217~901 aa,理论等电点为 4.67~9.56,其中 34 个成员为碱性蛋白。*ZoSnRKs* 启动子区含有丰富的光响应、激素响应及胁迫响应顺式作用元件,该家族蛋白受 C2H2、AP2/ERF、MYB 等多种转录因子调控。蛋白互作预测分析表明, *ZoCIPK18* 在胁迫响应过程中可能起核心作用。RNA-seq 和 RT-qPCR 结果表明,多个基因在盐和涝胁迫下被显著诱导表达,其中 *ZoSnRK2.5* 和 *ZoCIPK14* 等在盐胁迫下呈现多组织上调表达模式,而水涝胁迫则特异性诱导 *ZoCIPK11*、*ZoCIPK13*、*ZoCIPK21*、*ZoCIPK22*、*ZoCIPK27*、*ZoCIPK29*、*ZoCIPK33*、*ZoCIPK36* 等 8 个基因在根和根茎中的显著差异表达。

关键词: 生姜; *ZoSnRK* 基因家族; 生物信息学; 盐胁迫;
水涝胁迫

中图分类号: S632.5

文献标识码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



文章编号: 1673-9868(2026)07-0001-18

Identification of *ZoSnRK* gene family in *Zingiber officinale* and response characteristics under abiotic stresses

收稿日期: 2026-02-28

基金项目: 湖北省国际科技合作项目(2024EHA011); 重庆市川渝科技合作项目(CSTB2024TIAD-CYKJCXX0024); 长江大学大学生创新训练计划项目(Yz2024384)。

作者简介: 周弦, 硕士, 高级实验师, 主要从事园艺作物遗传育种研究。

通信作者: 张雪梅, 博士, 讲师, 硕士研究生导师。

Zhou Xian¹, Wang Jing¹, Li Gengran¹, Liu Yijing¹,
Wu Yanbi¹, Dai Yixin¹, Sun Chong², Zhang Xuemei¹

1. College of Horticulture and Gardening, Yangtze University/Hubei Key Laboratory of Spices & Horticultural Plant Germplasm Innovation & Utilization/Hubei Provincial Research and Development Center for Rapid Propagation of Virus-Free Ginger Seedlings, Jingzhou Hubei 434025, China;
2. College of Smart Agriculture/Institute of Special Plants, Chongqing University of Arts and Sciences, Chongqing 402160, China

Abstract: Sucrose non-fermenting-1-related protein kinase (SnRK1) plays a crucial regulatory role in plant resistance to abiotic stress. As an important economic crop, ginger frequently suffers from environmental stresses such as salinity and waterlogging. However, the functions of its SnRK gene family have not yet been systematically elucidated. Therefore, this study conducted a genome-wide identification of the *ZoSnRK* gene family in ginger and systematically analyzed its molecular characteristics, evolutionary relationships, as well as expression patterns and potential functions under salt and waterlogging stress. The results showed that a total of 54 *ZoSnRK* genes were identified in ginger, which could be classified into three subfamilies: SnRK1 (4), SnRK2 (14), and CIPK (36). The encoded proteins ranged in length from 217 to 901 amino acids, with theoretical isoelectric points between 4.67 and 9.56, among which 34 members were alkaline proteins. The promoter regions of *ZoSnRKs* contained abundant cis-acting elements related to light, hormone, and stress responses, and the proteins were predicted to be regulated by multiple transcription factors such as C2H2, AP2/ERF, and MYB. The prediction analysis of protein-protein interaction network indicated that *ZoCIPK18* may function as a hub protein. RNA-seq and RT-qPCR analyses revealed that multiple genes were significantly induced under salt and waterlogging stress. Among them, *ZoSnRK2.5* and *ZoCIPK14* and other genes exhibited up-regulated expression across multiple tissues under salt stress, while waterlogging stress specifically induced significant differential expression of eight genes, including *ZoCIPK11*, *ZoCIPK13*, *ZoCIPK21*, *ZoCIPK22*, *ZoCIPK27*, *ZoCIPK29*, *ZoCIPK33*, and *ZoCIPK36*, in roots and rhizomes.

Key words: *Zingiber officinale* Roscoe; *ZoSnRK* gene family; bioinformatics; salt stress; waterlogging stress

生姜(*Zingiber officinale* Roscoe)为姜科姜属多年生草本植物,作为我国重要的药食同源特色经济作物,在食品加工及中医药领域应用广泛,具有较高的经济价值与开发潜力^[1]。生姜最重要的部分是其地下根状茎,然而,在其栽培过程中,盐渍化与季节性水涝等非生物胁迫往往严重制约生姜产业稳定发展^[2-3]。盐胁迫造成的离子毒害、渗透胁迫与次级氧化损伤等显著干扰植株正常生理代谢^[4];水涝胁迫则导致植物根系缺氧,引发能量代谢危机与有害物质积累^[5],特别是具有地下膨大器官的植物,往往对其造成致死威胁。因此,系统解析生姜响应盐、涝胁迫的分子调控机制,挖掘关键抗逆基因资源,对培育生姜抗逆新品种、保障产业可持续发展具有重大意义。

植物在长期进化过程中形成了一套精密的信号调控网络以抵御各类环境胁迫^[6]。蔗糖非发酵相关蛋白激酶(Sucrose Non-fermenting 1-Related Protein Kinase, SnRK)家族是植物应答非生物胁迫信号网络中的核心枢纽,在感知能量变化、传递胁迫信号并激活下游防御反应中具有重要功能,根据其结构特征与生物学功能,该家族可划分为 SnRK1、SnRK2 和 SnRK3(CBL-Interacting Protein Kinase, CIPK)3个亚家

族^[7]。其中, SnRK1 亚家族主要作为细胞能量“传感器”,协调碳代谢与能量稳态以适应胁迫; SnRK2 亚家族是脱落酸(Absciscic Acid, ABA)依赖的渗透胁迫信号通路的核心成员,往往通过磷酸化下游转录因子与功能蛋白,调控胁迫相关基因的表达以增强植物抗逆性;而 CIPK 亚家族则通过与钙调磷酸酶 B 类蛋白(Calcineurin B-Like Protein, CBL)相互作用,特异性地响应盐、低钾等离子胁迫,并参与维持离子平衡、渗透调节和逆境信号转导等过程^[8-9]。这种功能上的精细分工,使得 SnRK 家族能够准确调控植物的多种抗逆机制。研究表明,盐胁迫下,被 ABA 激活的 SnRK2.6 可通过磷酸化修饰微管结合蛋白 SP2L,调控根尖微管排列方向,从而介导植物根系的抗盐反应,体现了 SnRK 在生理适应性中的直接调控作用^[7]。近年来,大量研究进一步揭示了 SnRK 家族成员在不同植物物种中的广泛功能,它们不仅参与干旱与盐胁迫响应,还介导对重金属、氧化胁迫等多种逆境的适应^[10-11]。如小麦 *TaSnRK1.10* 通过调控活性氧稳态并激活苯丙烷类生物合成途径正向调控对重金属铬的耐受性^[12];南瓜 *CpSnRK2.7* 与 *CpPP2Cs* 互作后进而调控氧化胁迫以提高耐盐性^[13];玉米 *ZmCIPK33* 与 *ZmSnRK2.10* 互作激活 ABA 信号通路以抵御干旱胁迫^[14]。然而,尽管 SnRK 家族在模式植物和部分作物中的功能图谱日益清晰,但在生姜这一重要药食同源经济作物中,其家族成员的全基因组鉴定、系统进化关系及在主栽区频发的盐、涝等胁迫下的具体调控功能的研究仍比较少。

本研究以生姜为研究对象,通过生物信息学方法综合分析其系统进化关系、基因结构与保守基序、染色体分布、共线性关系及顺式作用元件等分子特征;进一步结合转录组测序与 RT-qPCR 技术,明确该家族基因在盐、涝等胁迫下的表达模式,旨在全基因组范围内系统鉴定生姜 *ZoSnRK* 基因家族成员,从而鉴定出参与盐、涝胁迫响应的关键候选基因,为后续阐明生姜抗逆分子机制提供基因资源和直接证据。

1 材料与方法

1.1 生姜 *ZoSnRK* 家族成员鉴定与系统进化树构建

为全面鉴定生姜 *ZoSnRK* 基因家族,首先从 NCBI 数据库获取拟南芥已报道的所有 SnRK 蛋白序列作为参考,利用这些序列对本地生姜基因组蛋白质数据库^[15]进行 BLASTP 同源比对($E\text{-value}<10^{-10}$),初步筛选潜在家族成员。随后,通过 Pfam 数据库在线工具对所有候选蛋白序列进行保守结构域(SnRK, PF00069)验证。将鉴定获得的 *ZoSnRK* 蛋白序列与其拟南芥同源序列一并导入 MEGA 11.0 软件进行多序列比对。参数设置如下:空位开放罚分 10,空位延伸罚分 0.2,选用 BLOSUM 系列矩阵。采用最大似然法构建系统进化树,关键参数包括:自举重复 1 000 次,JTT+G 氨基酸替代模型,缺失数据处理选用部分删除方式,位点覆盖度 cutoff 值设为 50%,分支交换过滤器强度设置为中等。最终生成的系统发育树(NWK 格式)利用 Chiplot 在线平台进行可视化与美化,采用环形布局图直观展示两物种 SnRK 蛋白间的进化关系。

1.2 *ZoSnRK* 蛋白理化性质与结构特征分析

对鉴定出的所有 *ZoSnRK* 蛋白,利用 ExPASy 在线平台 ProtParam 工具分析其基本理化性质,包括氨基酸数目、理论分子量、等电点(pI)、不稳定系数、脂肪族氨基酸指数和总平均亲水性(GRAVY);使用 SignalP 6.0 预测蛋白序列中是否存在信号肽及其切割位点。通过 Plant-mPLoc 在线工具预测各蛋白的亚细胞定位;基于生姜基因组注释文件(GFF3 格式),提取各 *ZoSnRK* 基因的外显子-内含子结构信息,并利用 GSDS 2.0 在线工具进行可视化;采用 MEME 在线程序预测蛋白质的保守基序,最大基序数设定为 10;进一步利用 InterProScan 数据库对所有识别出的基序进行功能注释,以明确其对应的已知结构域;最后,运用 TBtools 软件整合基因结构、保守基序及系统进化关系,生成综合示意图。

1.3 染色体定位及共线性分析

根据生姜基因组注释信息,确定各 *ZoSnRK* 基因在染色体上的物理位置,并利用 TBtools 软件的

“Gene Location Visualize”功能进行可视化;采用该软件的 MCScanX 插件分析基因组中的共线性关系,并识别串联重复事件。为探究 *ZoSnRK* 基因家族的进化历史,使用 DIAMOND 软件对生姜全基因组蛋白序列进行自身比对,参数设置为: E 值阈值为 $1e-5$,最小序列一致性为 40%。根据系统进化关系及染色体位置,对鉴定出的基因进行统一命名,格式为 *ZoSnRK1.1-ZoSnRK1.4*、*ZoSnRK2.1-ZoSnRK2.14* 及 *ZoCIPK01-ZoCIPK36*。

1.4 启动子顺式作用元件

利用 TBtools 软件提取各 *ZoSnRK* 基因转录起始位点(TSS)上游 2 000 bp 的启动子序列,以 fasta 格式提交至 PlantTFDB v5.0 数据库进行在线预测,分析可能存在的转录因子结合位点及其他顺式作用元件,通过 Cytoscape 软件对预测结果进行网络可视化,分析关键调控元件与基因之间的潜在关联。

1.5 上游转录因子靶向调控网络预测

利用 PlantTFDB v5.0 数据库中已验证的转录因子结合位点信息,对各 *ZoSnRK* 基因启动子区(转录起始位点上游 2 000 bp)进行扫描。随后,将预测获得的潜在转录因子提交至 PlantRegMap 在线平台,基于拟南芥中已知的调控关系进行同源映射与网络预测,筛选出可能靶向 *ZoSnRK* 基因的高置信度转录因子。最后,使用 Cytoscape 软件构建并可视化由上游转录因子与其潜在靶基因(*ZoSnRK*)所组成的调控网络图。

1.6 *ZoSnRK* 蛋白互作网络及功能预测

为预测 *ZoSnRK* 蛋白的潜在互作伙伴及其参与的生物学通路,本研究基于 STRING v12.0 数据库进行蛋白互作网络分析。以鉴定出的 *ZoSnRK* 蛋白序列为查询对象,选择拟南芥为参考物种,筛选高置信度(综合评分 ≥ 0.7)的相互作用关系,结果以 TSV 格式导出。随后,使用 Cytoscape 3.9.1 软件对网络进行可视化呈现,并利用其内置工具分析网络的核心节点与拓扑属性。结合 KEGG 和 GO 富集分析结果,对 *ZoSnRK* 蛋白可能参与的生物学过程及分子功能进行预测。

1.7 非生物胁迫下的表达分析

从 NCBI SRA 数据库获取生姜转录组数据(登录号:SRP064226),包含盐胁迫(NaCl 20 g/L)、干旱胁迫(15% PEG-6000)及水涝胁迫处理 3 天后的叶、根、根茎组织样本,各处理均包含 3 个生物学重复^[16]。为分析各 *ZoSnRK* 基因在胁迫条件下的表达水平,使用 Cufflinks 软件基于经比对和组装得到的转录本参考序列,计算每个基因在各样本中的 FPKM 值以标准化其表达量。将计算得到的 FPKM 值进行 $\log_2(\text{FPKM}+1)$ 转换,以降低数据偏态并增强后续可视化分析的区分度。利用 TBtools 软件绘制基因表达热图,分析 *ZoSnRK* 家族成员在不同胁迫处理下各组织中的表达模式。最后,通过 DESeq2 进行差异表达基因分析(筛选条件: $|\log_2\text{FoldChange}| \geq 1$ 且 $\text{FDR} < 0.05$),并通过 VENNY 2.1 绘制韦恩图展示不同胁迫间差异表达基因的重叠与特有情况。

1.8 RT-qPCR 分析

以“竹根姜”为材料,选取大小一致的姜种,经晒种消毒后在 26 °C 黑暗条件下催芽至芽长约 1.5 cm。每盆播种 1 块姜种,待植株长至约 50 cm 高时,选用长势一致、健康的姜苗进行胁迫处理。设置如下处理:① 对照(正常水分管理);② 盐胁迫(每株使用 20 g/L 的 NaCl 溶液 400 mL,连续灌根 3 d);③ 水涝胁迫(保持水面高于基质表面 3 cm)。每处理 5 株幼苗,设 3 次生物学重复,分别于胁迫处理 3 d 后采集叶片(第 3~4 片完全展开叶)、根系(新生侧根)和姜块(根茎膨大部位)样品,用液氮速冻后于 -80 °C 保存备用。使用 RNA 提取试剂盒(Vazyme)提取各组织总 RNA,并反转录为 cDNA。根据转录组数据分析选取 *ZoSnRK2.4*、*ZoSnRK2.5*、*ZoSnRK2.9*、*ZoSnRK2.10*、*ZoSnRK2.13*、*ZoCIPK14*、*ZoCIPK27*、*ZoCIPK30* 和 *ZoCIPK36* 基因进行验证,通过 Primer Premier 5 设计基因特异性引物(表 1),以 *RBP* 为内参^[17]进行 RT-qPCR,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法^[16]计算基因相对表达量,并使用 Duncan's 检验分析差异显著性($p < 0.05$)。

表 1 生姜 *ZoSnRKs* 基因表达分析实时荧光定量引物

命名	基因 ID	引物序列(5'~3')
<i>ZoSnRK2.4</i>	Maker00026605	F: CATGACGAACCTGCCTAAGGA; R: GATCGCATTGGCTTCGAGAGT
<i>ZoSnRK2.5</i>	Maker00026703	F: CATTCGAGGCCGAAATCGACG; R: TCGATGCTGTAGTCCTCCGTC
<i>ZoSnRK2.9</i>	Maker00037598	F: CGAAACAGAGAATGATCAAGC; R: CACTGCTATCGACTTCAGAGT
<i>ZoSnRK2.10</i>	Maker00037584	F: CTGAAGAATTTGCCTAGAGAG; R: CTCCACTTGCTCTCACTTCCT
<i>ZoSnRK2.13</i>	Maker00008322	F: GAAGAACTTGCCTAGGGAGCT; R: CTCCAATCATCTTCCCTTTGC
<i>ZoCIPK14</i>	Maker00030250	F: GGCAGATGAATGGTTCAAGCA; R: GATGAAGACATTCCAATCAGC
<i>ZoCIPK27</i>	Maker00004804	F: CATGGACCACCTTGTTTCAA; R: CCGACGACAATGAGGAGATGA
<i>ZoCIPK30</i>	Maker00061457	F: CCTTGGTTTCAGGAAAGGCCTT; R: CTGAAAGGTCAAATCCAGCAG
<i>ZoCIPK36</i>	Maker00077418	F: GCTTCCGCCAGTTCAAGTTCT; R: GAGATGATGTCGAAGGCGTTC
<i>RBP</i>	<i>ACT</i>	F: CCTATGAAGCGTAGAAACACAAG; R: GGAAGGACAACATCCCAAATC

2 结果与分析

2.1 生姜 *ZoSnRK* 家族成员鉴定

本研究通过对生姜全基因组数据系统分析, 共鉴定出 54 个具有完整 SnRK 保守结构域的基因, 基于最大似然法构建的系统进化树分析表明, 这些成员可明确划分为 SnRK1、SnRK2 和 CIPK(SnRK3)3 个亚家族, 分别包含 4 个、14 个和 36 个成员(图 1)。

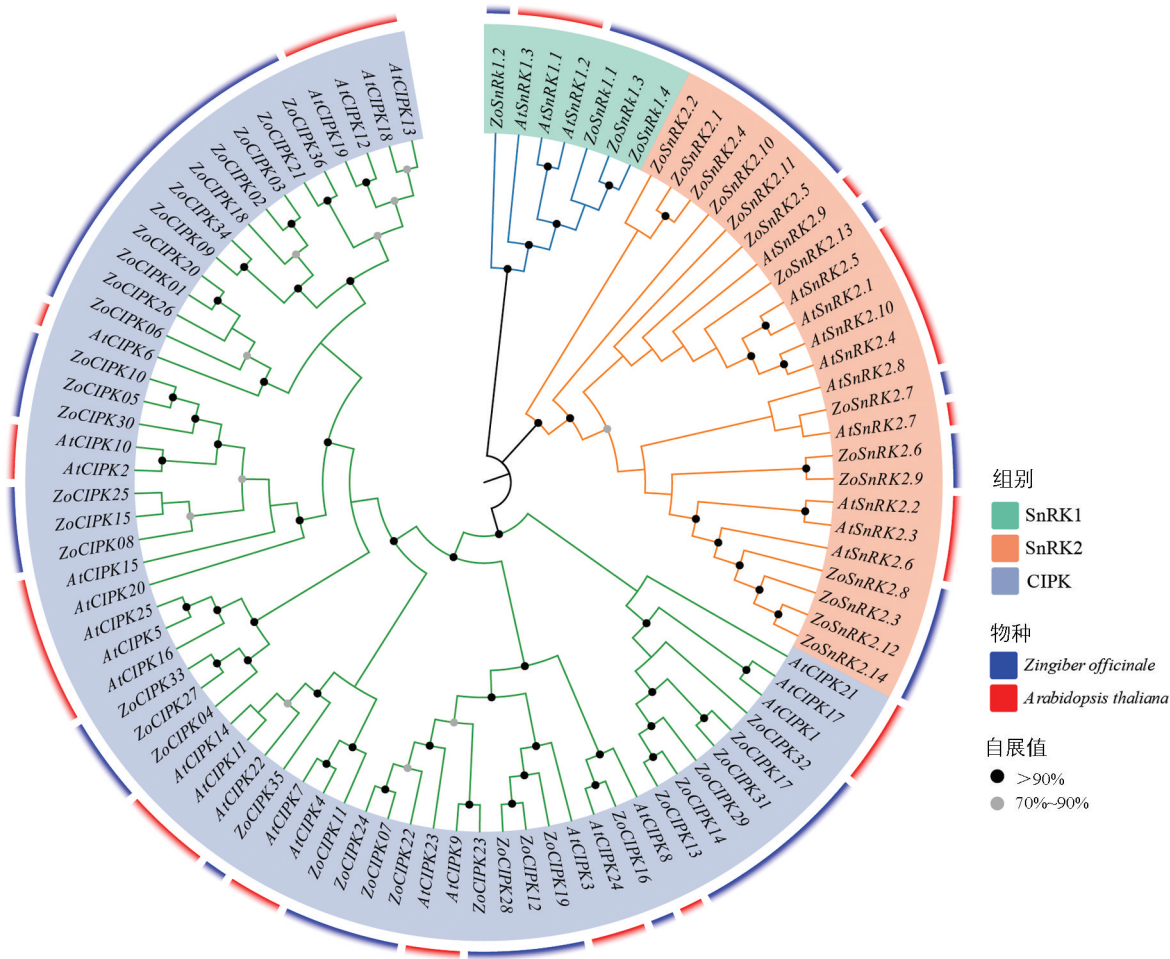


图 1 生姜 *ZoSnRK* 基因家族系统进化树

2.2 蛋白理化性质及亚细胞定位分析

对 54 个 ZoSnRK 家族成员的理化性质分析表明(表 2),其氨基酸长度介于 217 aa(ZoSnRK2.4)至 901 aa(ZoSnRK1.2)之间,平均长度为 433.15 aa;预测分子量范围为 24.82 kDa(ZoSnRK2.4)至 102.79 kDa(ZoSnRK1.2)。理论等电点(pI)分布在 4.67(ZoSnRK2.12)到 9.56(ZoCIPK35)之间,其中 20 个成员 pI<7,呈酸性,34 个成员 pI>7,呈碱性。不稳定系数介于 22.84(ZoCIPK05)至 56.45(ZoSnRK2.1)之间,共有 27 个蛋白不稳定系数低于 40,属于稳定蛋白,其余 27 个高于 40,为不稳定蛋白。脂肪族氨基酸指数在 73.49(ZoSnRK2.10)到 105.00(ZoCIPK16)之间,总平均疏水性(GRAVY)值介于-0.66(ZoSnRK2.11)至-0.015(ZoCIPK16)之间,表明所有成员均为亲水性蛋白。亚细胞定位预测显示,多数 ZoSnRK 蛋白定位于细胞核(21 个),少数分布于细胞骨架与内质网等部位。

表 2 生姜 ZoSnRK 蛋白理化性质

命名	基因 ID	氨基酸 数量	相对 分子量	理论 等电点	不稳定 指数	脂肪 族指数	总平均 疏水指数	亚细胞 定位
ZoSnRK1.1	Maker00070797	415	47 463.56	7.64	48.31	92.75	-0.367	细胞核
ZoSnRK1.2	Maker00058087	901	102 786.3	9.08	41.73	95.89	-0.183	细胞质
ZoSnRK1.3	Maker00057697	312	35 498.77	8.53	35.82	89.71	-0.383	细胞质
ZoSnRK1.4	Maker00015049	552	63 131.39	8.76	40.48	93.79	-0.277	细胞质
ZoSnRK2.1	Maker00046261	440	49 573.45	6.19	56.45	80.84	-0.371	细胞核
ZoSnRK2.10	Maker00037584	272	31 145.15	5.94	41.58	73.49	-0.485	细胞骨架
ZoSnRK2.11	Maker00012832	374	42 966.76	6.05	48.47	75.59	-0.66	细胞质
ZoSnRK2.12	Maker00057588	306	34 172.90	4.67	36.79	86.05	-0.208	叶绿体
ZoSnRK2.13	Maker00008322	406	46 395.35	6.07	44.57	89.04	-0.312	细胞质
ZoSnRK2.14	Maker00014994	255	28 741.54	4.68	38.31	81.84	-0.426	叶绿体
ZoSnRK2.2	Maker00020750	239	27 809.46	6.11	45.49	90.13	-0.139	细胞质
ZoSnRK2.3	Maker00021594	332	37 770.92	4.74	38.43	89.88	-0.265	细胞质
ZoSnRK2.4	Maker00026605	217	25 086.30	4.89	46.45	74.15	-0.659	细胞质
ZoSnRK2.5	Maker00026703	217	24 816.39	8.94	44.71	83.59	-0.454	细胞质
ZoSnRK2.6	Maker00033690	339	38 612.90	5.74	42.02	83.36	-0.406	细胞质
ZoSnRK2.7	Maker00050693	284	31 885.42	5.33	31.19	88.56	-0.233	细胞质
ZoSnRK2.8	Maker00037019	381	43 291.42	5.05	38.75	91.36	-0.259	细胞质
ZoSnRK2.9	Maker00037598	353	40 110.61	5.24	43.14	86.43	-0.359	细胞质
ZoCIPK01	Maker00012431	453	50 308.77	8.82	41.44	84.37	-0.238	质膜
ZoCIPK02	Maker00034324	481	53 785.79	6.36	39.53	86.94	-0.217	细胞质
ZoCIPK03	Maker00046915	489	54 717.98	6.79	39.57	88.73	-0.217	细胞质
ZoCIPK04	Maker00056635	734	83 550.02	5.78	53.65	81.13	-0.482	细胞核
ZoCIPK05	Maker00025032	424	48 350.89	8.99	22.84	90.83	-0.397	叶绿体
ZoCIPK06	Maker00011551	425	46 749.88	9.05	36.13	87.72	-0.137	质膜
ZoCIPK07	Maker00075104	455	51 851.93	9.01	34.65	89.76	-0.361	细胞质
ZoCIPK08	Maker00072547	438	49 960.82	9.28	30.84	86.55	-0.368	细胞骨架

续表 2

命名	基因 ID	氨基酸 数量	相对 分子量	理论 等电点	不稳定 指数	脂肪 族指数	总平均 疏水指数	亚细胞 定位
ZoCIPK09	Maker00055578	487	54 642.63	8.59	38.09	83.45	−0.319	叶绿体
ZoCIPK10	Maker00009377	444	50 795.91	8.88	33.21	90.47	−0.361	叶绿体
ZoCIPK11	Maker00026592	438	47 905.22	8.81	44.08	96.96	−0.081	叶绿体
ZoCIPK12	Maker00033191	471	53 949.17	8.58	36.01	83.18	−0.363	叶绿体
ZoCIPK13	Maker00032062	455	51 232.73	7.65	39.86	94.24	−0.326	叶绿体
ZoCIPK14	Maker00030250	452	50 887.49	7.19	39.17	94.65	−0.305	叶绿体
ZoCIPK15	Maker00020361	524	59 236.86	9.48	36.07	88.80	−0.281	叶绿体
ZoCIPK16	Maker00022626	464	52 222.66	8.76	35.38	105.00	−0.015	质膜
ZoCIPK17	Maker00022885	435	48 713.90	7.90	44.58	89.36	−0.370	细胞质
ZoCIPK18	Maker00075870	483	54 044.66	6.42	46.58	86.79	−0.291	细胞质
ZoCIPK19	Maker00038844	445	50 549.13	7.20	31.26	87.84	−0.356	叶绿体
ZoCIPK20	Maker00024886	431	47 637.87	8.76	42.37	88.68	−0.143	质膜
ZoCIPK21	Maker00068804	501	55 064.66	7.65	43.14	83.17	−0.315	叶绿体
ZoCIPK22	Maker00070802	443	50 262.15	8.79	27.54	86.03	−0.334	叶绿体
ZoCIPK23	Maker00037012	448	50 129.51	8.99	33.42	84.17	−0.383	叶绿体
ZoCIPK24	Maker00028090	515	58 203.29	9.04	32.01	86.52	−0.341	质膜
ZoCIPK25	Maker00028562	441	50 481.58	9.34	33.01	85.94	−0.346	细胞质
ZoCIPK26	Maker00004809	437	48 312.6	8.40	40.61	89.54	−0.191	细胞质
ZoCIPK27	Maker00004804	440	49 700.04	8.85	47.82	82.20	−0.367	叶绿体
ZoCIPK28	Maker00022317	448	50 947.34	6.91	36.27	85.94	−0.446	内质网
ZoCIPK29	Maker00022333	463	52 168.44	6.26	44.46	89.01	−0.431	细胞质
ZoCIPK30	Maker00061457	467	52 750.43	9.23	35.21	93.58	−0.267	叶绿体
ZoCIPK31	Maker00061658	466	52 381.27	8.51	39.96	97.21	−0.302	细胞核
ZoCIPK32	Maker00061600	430	48 281.35	5.71	43.18	93.37	−0.321	细胞质
ZoCIPK33	Maker00010381	439	50 052.73	8.69	40.90	79.5	−0.359	内质网
ZoCIPK34	Maker00000660	476	53 612.77	9.05	40.95	87.46	−0.263	叶绿体
ZoCIPK35	Maker00000503	438	48 211.09	9.56	41.35	91.55	−0.247	叶绿体
ZoCIPK36	Maker00077418	515	57 176.25	8.98	42.96	79.94	−0.364	叶绿体

2.3 ZoSnRK 蛋白结构特征分析

蛋白结构分析表明, ZoSnRK 家族成员在结构上存在显著分化(图 2)。在 ZoCIPK 亚家族的 36 个蛋白中, 有 20 个不含内含子; 而在 ZoSnRK1/2 亚家族中, 除少数几个没有内含子外, 其他成员均含有 1~5 个内含子; 此外, 共有 24 个蛋白在其序列中预测到 UTR 区(图 2a)。保守结构域分析显示, SnRK1 亚家族成员均包含典型的 UBA_SnRK1_plant 结构域; SnRK2 亚家族成员主要包含 STKc_SnRK2 和 PKc_like 超家族结构域; 而 CIPK 亚家族成员则普遍含有 PKc_like 超家族、STKc_SnRK3 以及 CIPK_C 结构域(图 2b)。在 ZoSnRK 蛋白序列中共鉴定出 10 个保守基序(Motif1~Motif10)。其中, SnRK2 亚家族中的 ZoSnRK2.1

和 ZoSnRK2.4 所含基序最少(仅 2 个),而绝大多数 ZoCIPK 蛋白含有全部 10 个基序(ZoCIPK32 缺少 Motif7),这些基序共同组成高度保守的结构域(图 2c)。

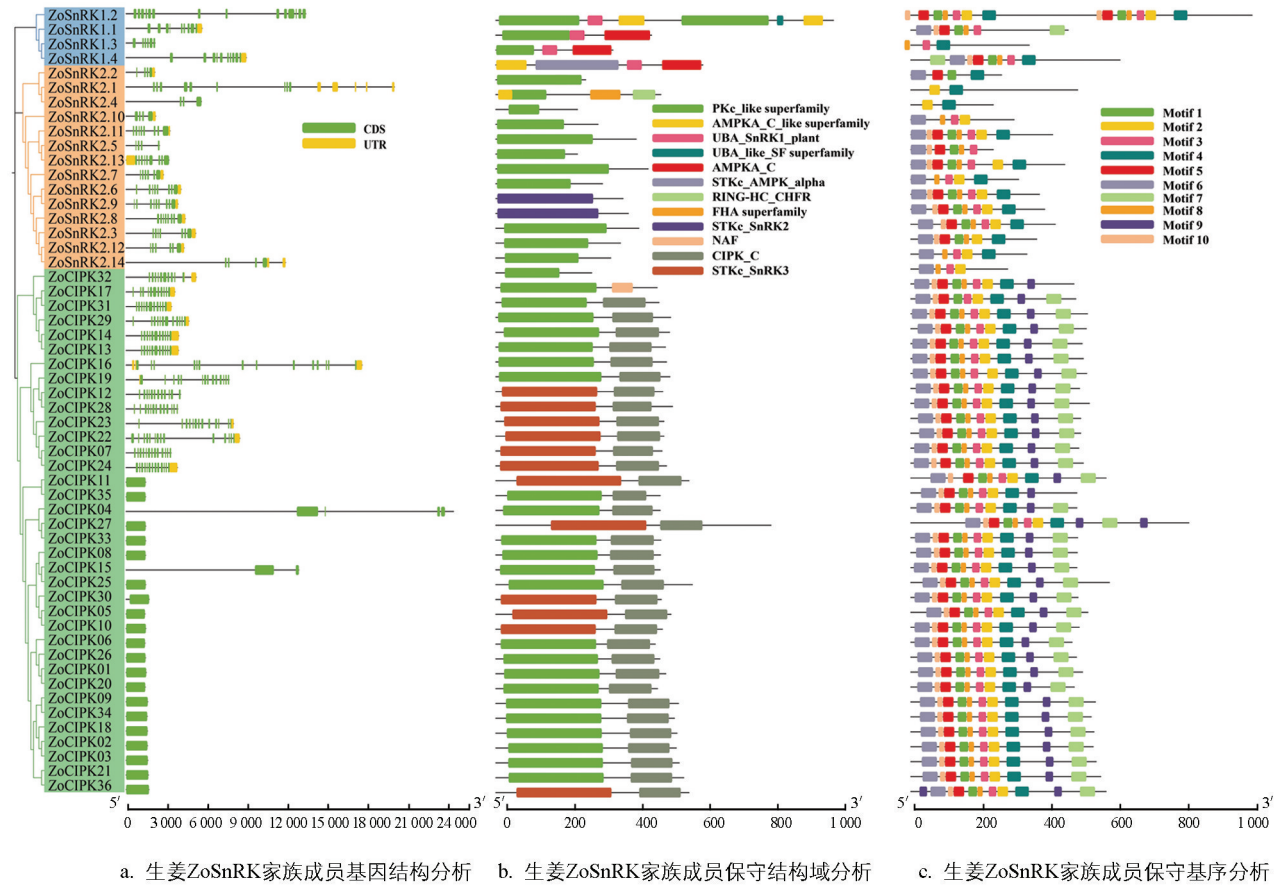


图 2 ZoSnRK 家族蛋白结构特征分析

2.4 生姜 ZoSnRK 在染色体上的分布及共线性分析

染色体定位结果显示,54 个 ZoSnRK 基因在生姜 11 条染色体上呈不均匀分布(图 3)。其中,10 号染色体分布最为密集,含有 9 个基因;其次是第 18 号和 20 号染色体,均含有 8 个基因;4 号染色体仅含有 1 个基因(ZoCIPK4)。从亚家族分布来看,16 号、18 号和 22 号染色体同时分布有 SnRK1、SnRK2 和 CIPK 3 个亚家族成员,而 2 号、4 号、6 号、12 号和 20 号染色体上则仅有 CIPK 亚家族成员。

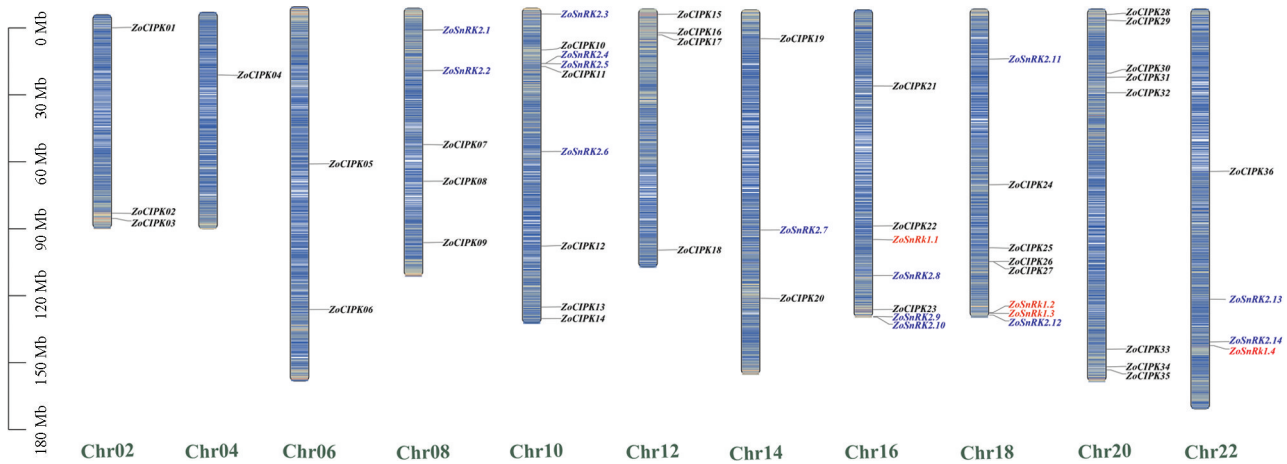


图 3 生姜 ZoSnRK 家族基因染色体定位

为揭示 *ZoSnRK* 基因家族的进化特征, 对该基因家族成员进行种内基因组分析(图 4), 包括染色体位置、全基因组基因密度分布、各基因的 GC 含量比值(GCratio, 红色)及 N 含量比值(Nratio, 蓝色)。共线性分析鉴定出 19 对由片段重复事件产生的重复基因对, 存在于各亚族基因之间, 这些重复可能通过基因剂量效应促进了家族成员的功能分化。



为进一步阐明 *ZoSnRK* 基因家族的进化起源, 选取拟南芥(双子叶)、水稻(单子叶)、小果野蕉(单子叶)及番茄(双子叶)进行种间共线性比较。结果表明(图 5), 生姜与单子叶植物(水稻 11 对、小果野蕉 62 对)的共线基因数量显著多于双子叶植物(拟南芥 1 对、番茄 3 对)。这从基因组层面支持了生姜作为单子叶植物的分类地位, 其 *SnRK* 基因家族与单子叶近缘物种具有更近的进化关系。生姜与小果野蕉之间存在大量共线基因(62 对), 远多于其他比较物种, 这可能与二者同属姜目(Zingiberales)有关, 反映了较近的系统发育距离。

54 个 *ZoSnRK* 基因启动子序列中共包含 55 种不同类型的顺式作用元件(图 6a), 包括光响应元件(19 种, 34.6%)、植物激素响应元件(13 种, 23.6%)、生长发育相关元件(13 种, 23.6%)与非生物胁迫响应元件(10 种, 18.2%)。其中, G-box、ABRE 及 Box 4 等核心调控元件在家族成员中出现频率最高

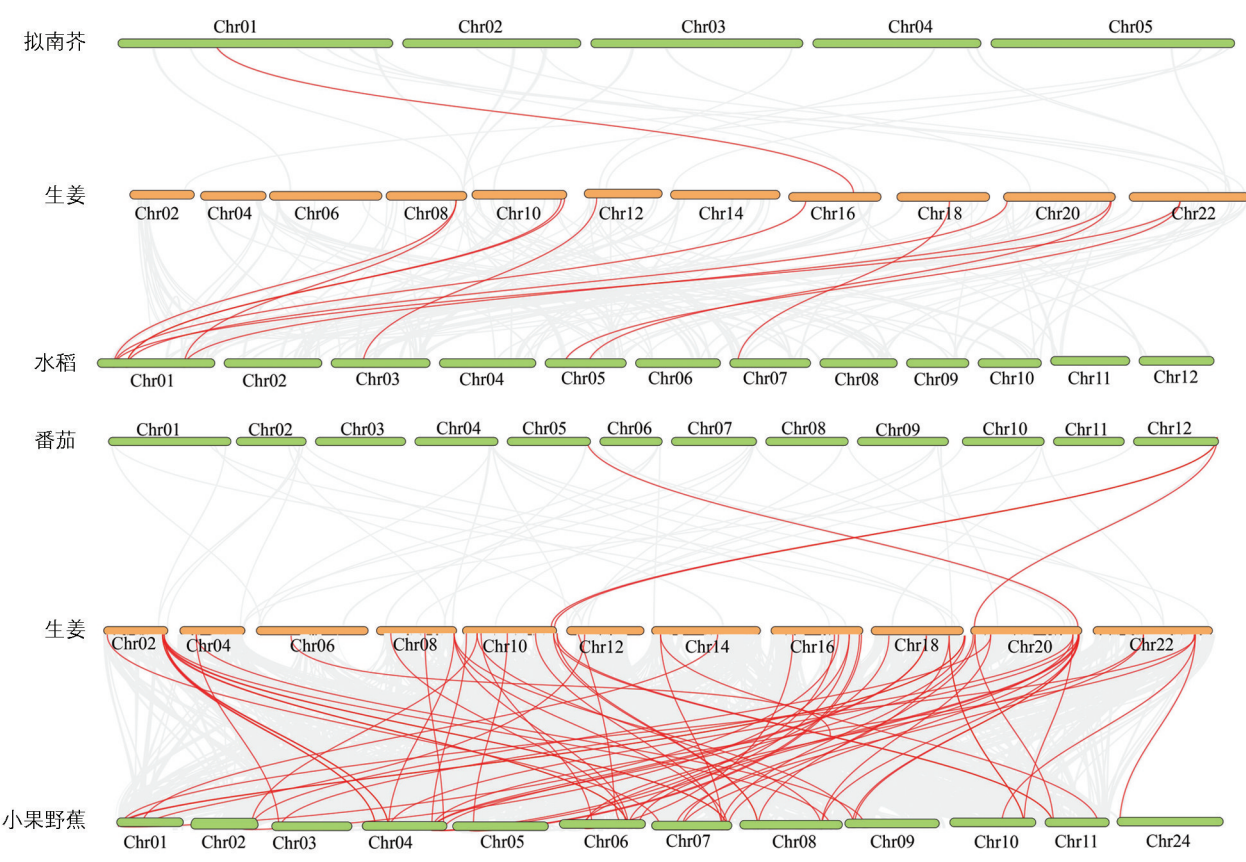


图 5 生姜与拟南芥、水稻、番茄、小果野蕉种间共线性分析

(图 6b)。Box 4 与 G-box 为典型的光响应元件，提示 *ZoSnRK* 可能参与光信号调控的生理过程。此外，ABRE 作为 ABA 响应元件广泛分布于 *ZoSnRK* 启动子区，进一步证明了该家族在 ABA 介导的胁迫信号通路中具有重要作用。

2.7 上游转录因子结合位点预测

通过预测分析 *ZoSnRK* 基因启动子区的转录因子结合位点，发现共有 36 个转录因子(TF)家族可能参与其表达调控(图 7)。其中，C2H2、AP2/ERF、HD-ZIP、MADS-box、MYB 及 Dof 等 6 类转录因子的预测结合频率较高，且结合度中心性值均为 54，表明这些转录因子可能在 *ZoSnRK* 基因的转录调控中发挥关键作用。

2.8 蛋白互作网络分析

通过 STRING 对蛋白互作网络进行预测，结果显示 *ZoCIPK18* 的互作连接度显著高于其他成员(图 8)，表明该蛋白作为核心枢纽蛋白具有协调上下游信号传递的关键作用。GO 功能富集分析进一步发现，*ZoSnRK* 蛋白显著富集于蛋白质磷酸化(GO: 0006468)、信号转导(GO: 0007165)及蛋白质修饰过程(GO: 0035556)等生物学过程，说明 *ZoSnRK* 家族主要通过磷酸化修饰参与胁迫信号转导，从而调控植物的防御响应与代谢平衡。

2.9 非生物胁迫下的表达模式分析

转录组数据分析表明(图 9a)，*ZoSnRK* 基因家族成员在非生物胁迫下呈现显著的组织特异性与功能分化表达模式。经盐胁迫处理后的叶片、根和根茎中分别有 21 个、12 个和 4 个基因显著差异表达。其中，叶片中 12 个基因上调、9 个下调；根中 5 个上调、7 个下调；根茎中 3 个上调、1 个下调。值得注意的是，*ZoSnRK2.5* 和 *ZoCIPK14* 在 3 个组织中均被显著诱导表达(图 9b)，表明其在盐胁迫响应中可能具有核心调控作用。在干旱(PEG)胁迫下大部分基因无明显表达差异，仅在叶片中检测到

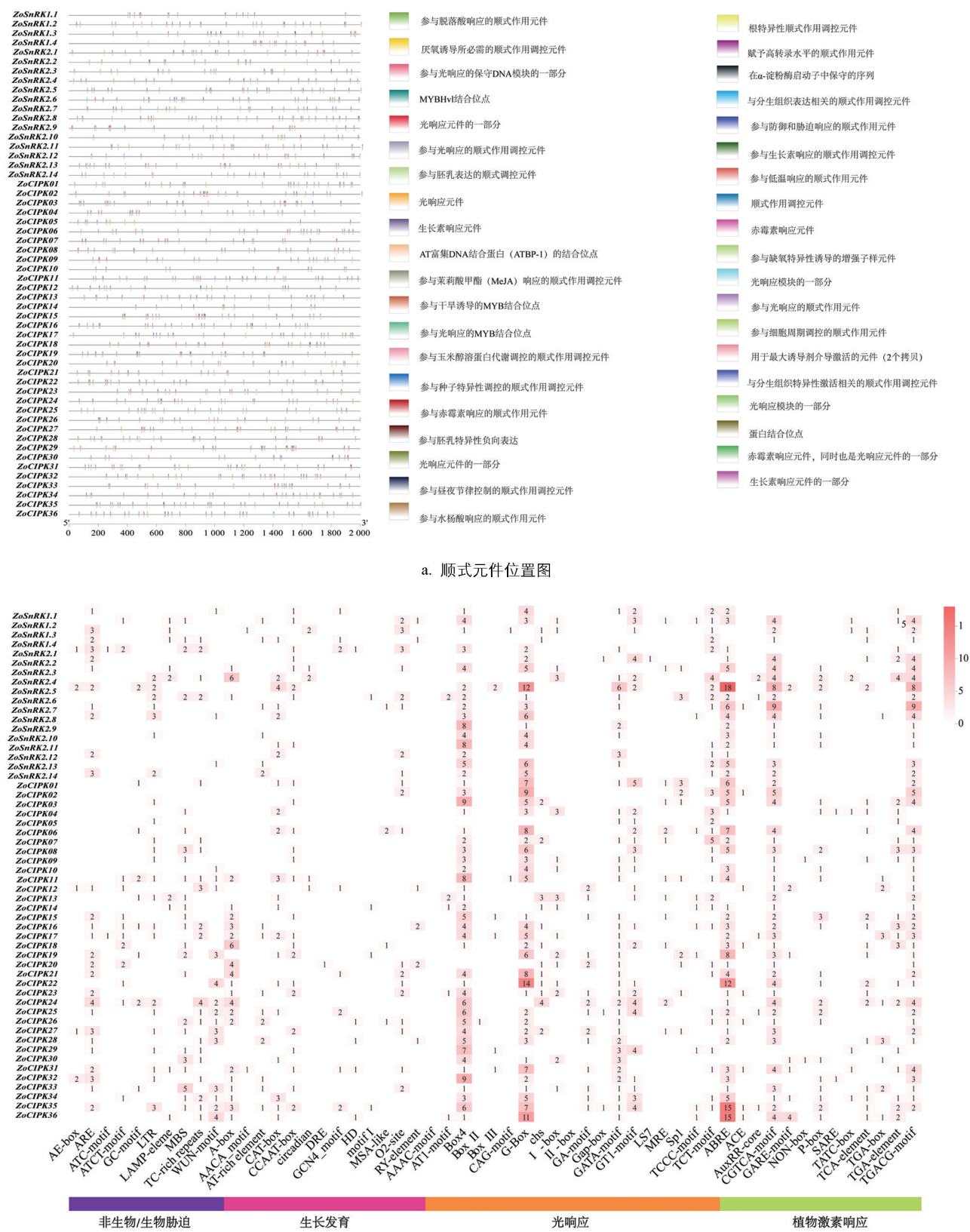
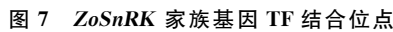


图 6 *ZoSnRK* 基因启动子顺式作用元件分析



为验证转录组数据的可靠性,选取了在盐胁迫和水涝胁迫下响应显著的 9 个 *ZoSnRK* 基因(*ZoSnRK2.4*、*ZoSnRK2.5*、*ZoSnRK2.9*、*ZoSnRK2.10*、*ZoSnRK2.13*、*ZoCIPK14*、*ZoCIPK27*、*ZoCIPK30* 和 *ZoCIPK36*),通过 RT-qPCR 分析其在不同组织中的表达模式。结果显示,RT-qPCR 测定的基因表达趋势与转录组测序结果高度一致。在盐胁迫下,*ZoSnRK2.4*、*ZoSnRK2.5* 和 *ZoCIPK14* 在根、叶及根茎中均被显著诱导表达。在水涝胁迫下,基因表达呈现显著的组织特异性:在根中,*ZoSnRK2.4*、*ZoSnRK2.5*、*ZoSnRK2.10*、*ZoSnRK2.13*、*ZoCIPK27* 和 *ZoCIPK30* 显著上调表达(1.33~6.24 倍),而 *ZoCIPK14* 和 *ZoCIPK36* 的表达则受到显著抑制;在根茎中,*ZoSnRK2.4*、*ZoSnRK2.5*、*ZoSnRK2.9*、*ZoCIPK27* 和 *ZoCIPK36* 被显著诱导,其余基因表达无显著变化(图 10)。

SnRK 家族是植物感知并整合环境胁迫信号的核心组件,在调控能量平衡、激素信号转导及逆境应答网络中发挥着至关重要的作用^[18]。尽管该家族在拟南芥、水稻等模式植物中的功能特征已较为明晰,

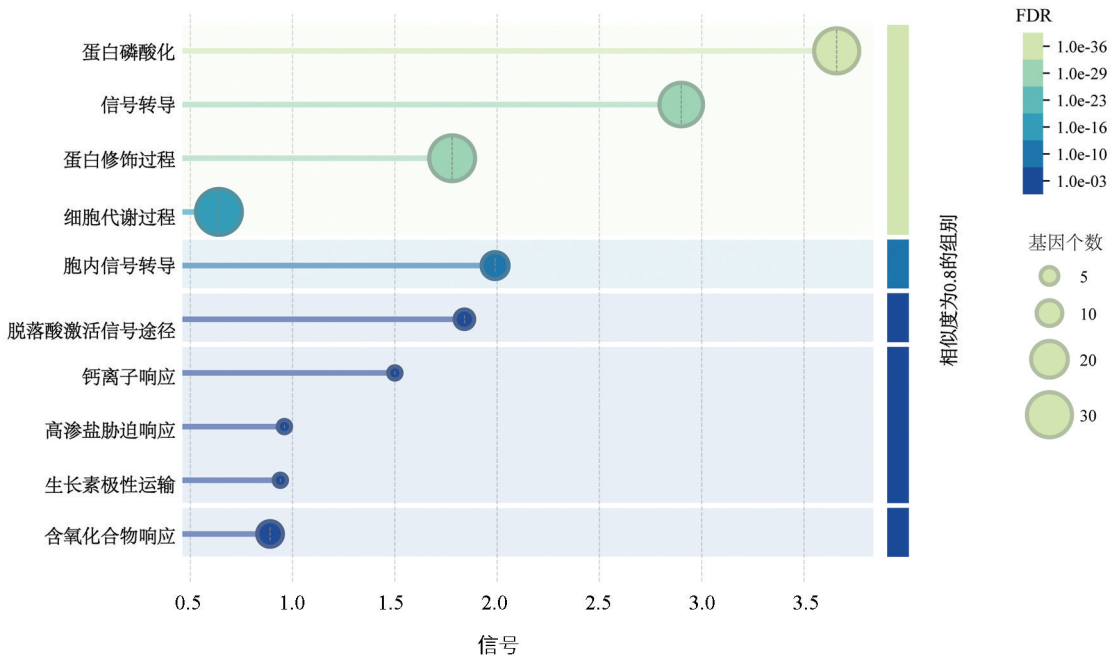
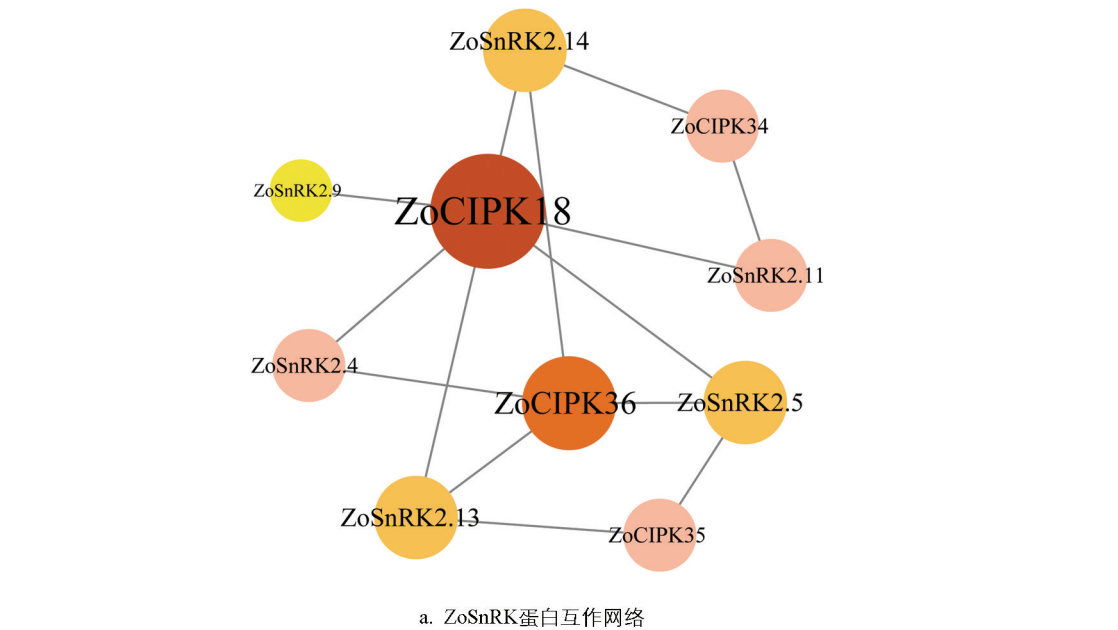
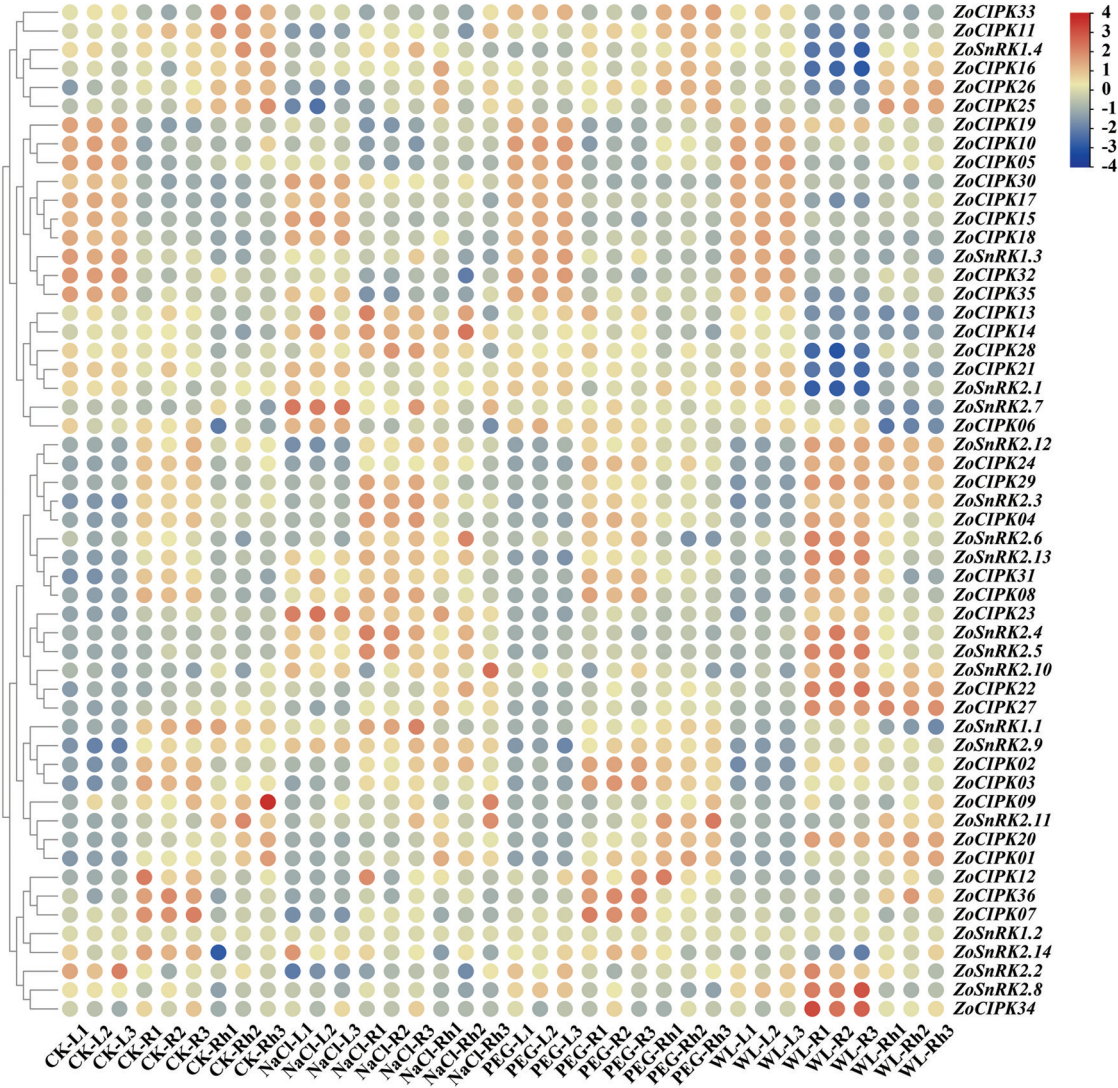


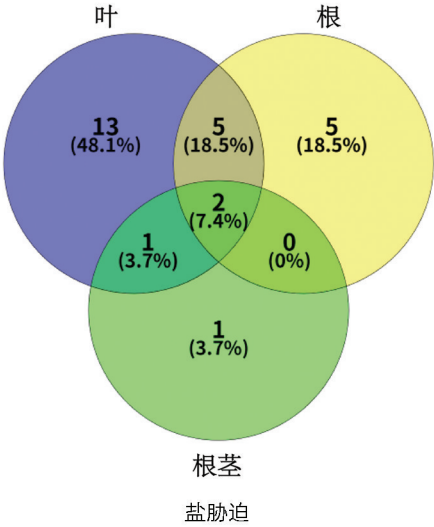
图 8 *ZoSnRK* 家族蛋白相互作用分析

但在生姜这类基因组复杂并采用无性繁殖方式的作物中，其完整的家族图谱与功能特性仍属空白。本研究从生姜基因组中共鉴定出 54 个 *ZoSnRK* 基因，并将其系统划分为 SnRK1、SnRK2 和 CIPK 3 个亚家族。通过生物信息学分析以及其在非生物胁迫下的表达模式进行多层次解析，既深化了对单子叶植物姜目物种 SnRK 基因家族的认知，又为生姜抵抗盐渍和水涝胁迫的分子机理提供了重要的候选基因资源和理论依据。

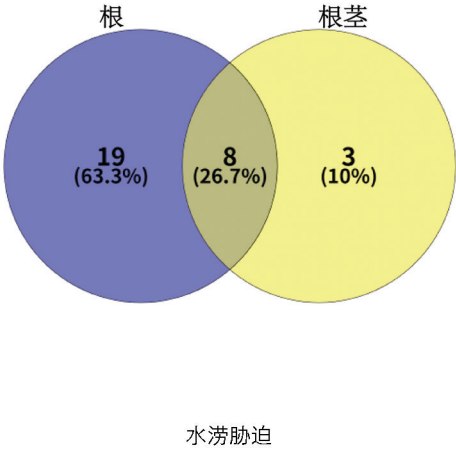
片段复制事件是驱动生姜 *ZoSnRK* 基因家族规模扩张的关键进化动力^[19]。在本研究中，通过共线性分析鉴定出 19 对由片段复制产生的基因对，且广泛分布于不同的系统进化分支中，说明复制后的基因赋予了该家族更强大的遗传可塑性，从而增强生姜适应多样化环境挑战的潜力。另外，生姜与同属姜



a. *ZoSnRKs*在非生物胁迫下的热图分析

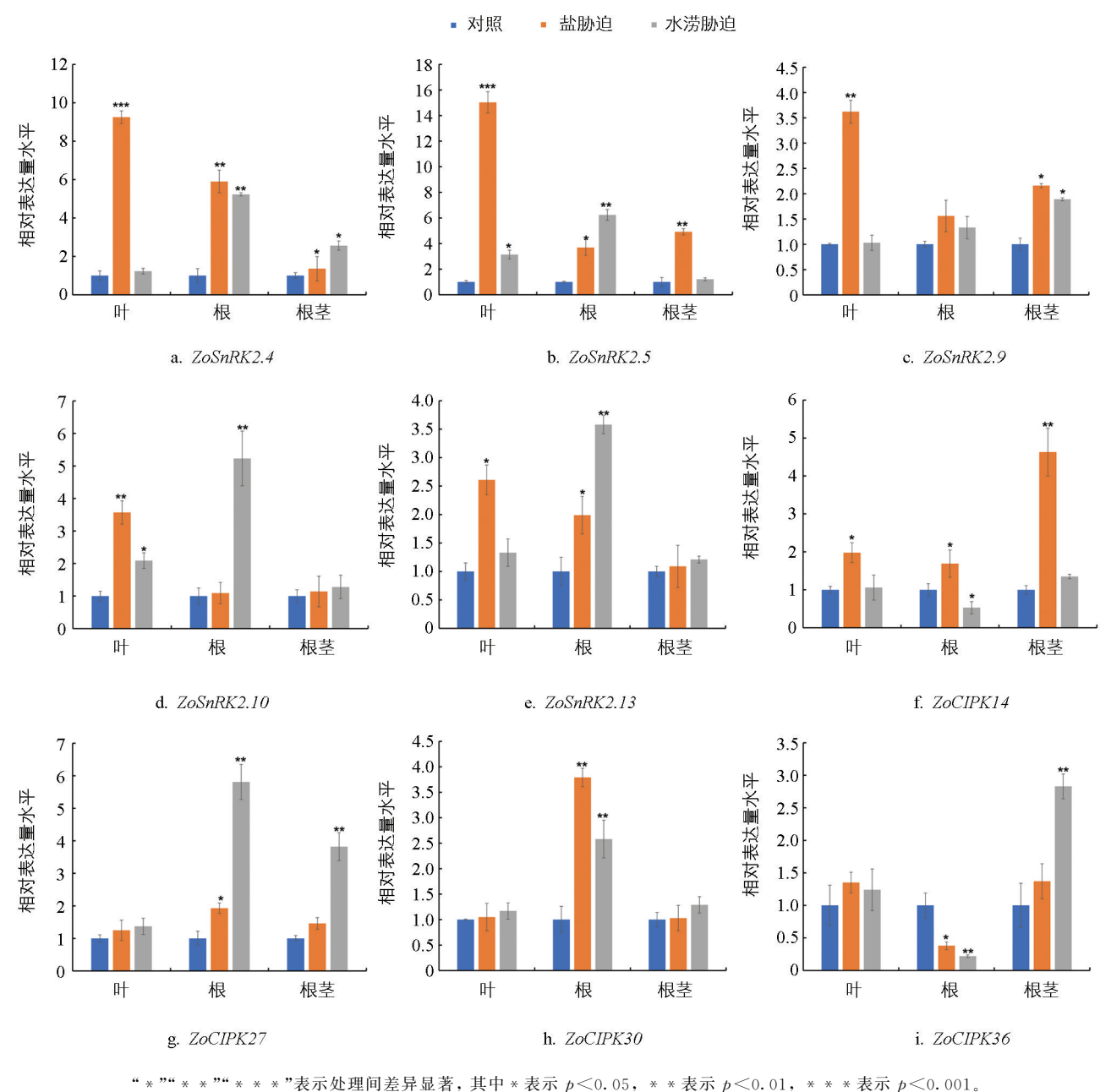


b. 盐胁迫下差异基因韦恩图



c. 水涝胁迫下差异基因韦恩图

图 9 *ZoSnRKs* 在非生物胁迫下的表达分析



“*”“**”“***”表示处理间差异显著, 其中*表示 $p < 0.05$, **表示 $p < 0.01$, ***表示 $p < 0.001$ 。

图 10 *ZoSnRKs* 在盐胁迫和水涝胁迫下的 RT-qPCR 验证

目的小果野蕉之间存在高达 62 对共线基因, 远超过其与水稻、玉米等其他单子叶植物的共线基因对数, 更显著多于拟南芥、番茄等双子叶植物, 说明在单子叶植物生姜中, 其 SnRK 基因家族与姜目近缘物种存在高度保守的进化关系, 姜目作物 SnRK 基因的相关功能研究成果在近缘物种间具有较高的参考与借鉴价值。

对 *ZoSnRK* 家族成员的系统进化与蛋白质结构域分析发现, SnRK1 亚家族(仅含 4 个成员)作为高度保守的“细胞能量感应器”均包含典型的 UBA_SnRK1_plant 结构域^[20]。该结构域对于感知细胞内 AMP/ATP 比值等能量状态至关重要, 推测该亚家族在协调生姜整体能量代谢稳态与胁迫适应过程中发挥核心调控作用^[21]。SnRK2 亚家族是 ABA 信号通路的核心正调控激酶, 成员主要含有 STKc_SnRK2 等特征结构域^[22]。该亚族成员在非生物胁迫下被 ABA 激活, 进而通过磷酸化下游转录因子或膜通道蛋白, 介导气孔运动以及渗透保护物质合成等一系列防御反应^[23]。CIPK 亚家族(含 36 个成员)结构最为复杂, 其蛋白普遍含有负责感知钙信号的 CIPK_C 结构域^[24], 通常与特定的 CBL 蛋白形成复合体, 激活由各种胁迫(如

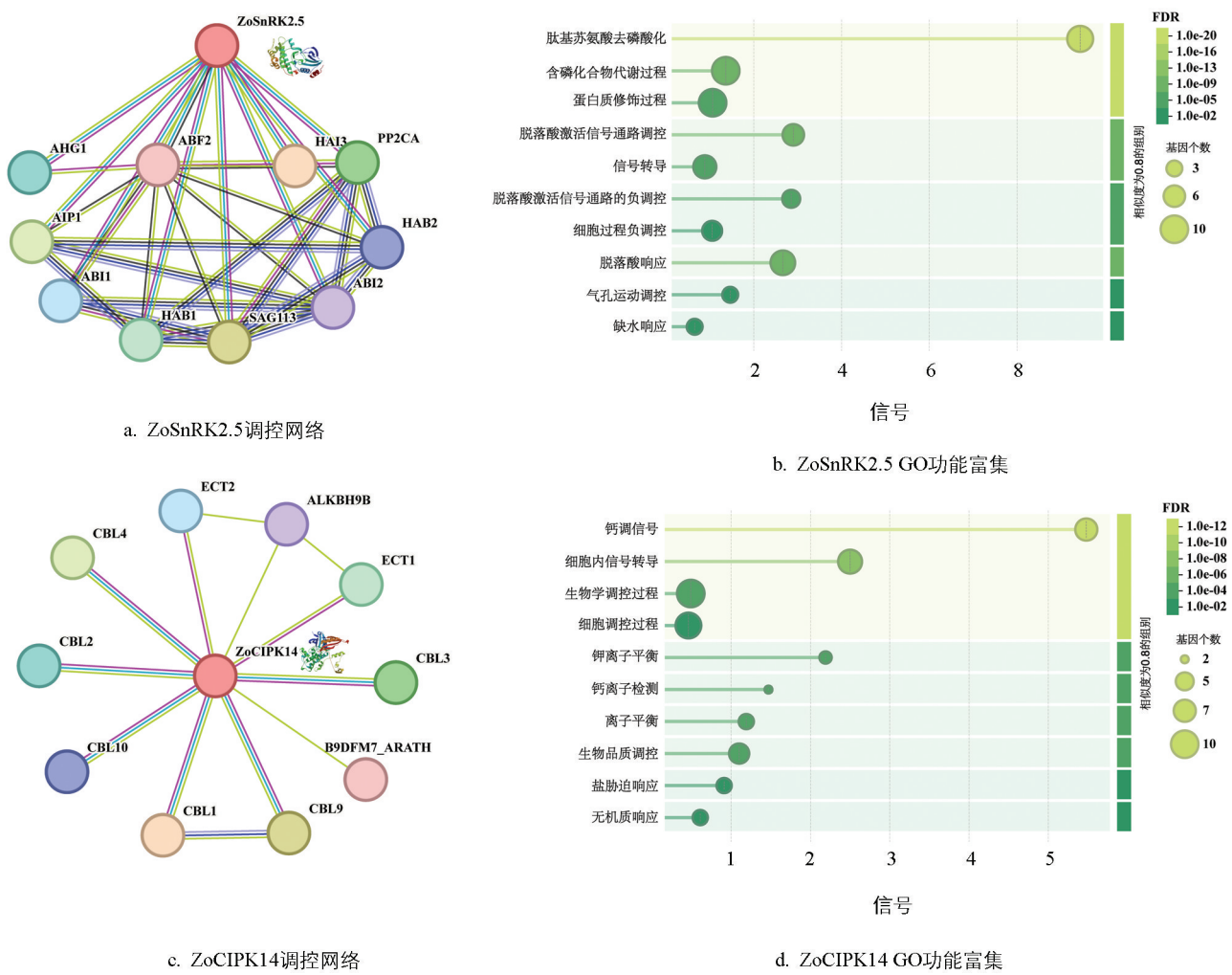


图 11 ZoSnRK2.5 与 ZoCIPK14 蛋白功能预测

盐、涝、低钾)触发的钙离子信号,并将其转化为对离子转运系统和活性氧平衡机制的精密调控^[25-26]。因此,CIPK 亚家族很可能是生姜应对离子毒害等胁迫、维持细胞离子动态平衡的关键执行者。

对 *ZoSnRK* 基因上游启动子区域的顺式作用元件分析,为解析其胁迫响应特性提供了直接的 DNA 序列证据^[27]。分析发现,启动子区大量富集了脱落酸响应元件(ABRE)、光响应元件(如 G-box, Box 4)以及其他多种与非生物胁迫相关的调控元件。其中,ABRE 元件的广泛分布,与 SnRK2 亚家族作为 ABA 信号核心组件的功能定位高度吻合,从基因组水平证实了 *ZoSnRK* 家族深度参与 ABA 介导的胁迫信号网络^[28]。转录组测序与 RT-qPCR 试验数据,从基因表达水平上有力验证了上述生物信息学预测,并进一步揭示了 *ZoSnRK* 基因响应胁迫的组织特异性与胁迫类型特异性。在盐胁迫下,根、叶、根茎中均有大量基因表现出显著性差异表达。值得注意的是,*ZoSnRK2.5* 和 *ZoCIPK14* 在多个组织中均显著上调表达,这两个基因与拟南芥中同源基因相似度分别达到 86.2%和 60.3%;通过 STRING 预测,*ZoSnRK2.5* 与 AHG1、ABF2、PP2CA 等蛋白存在相互作用,共同参与缺水响应、脱落酸响应等重要生物学过程;而 *ZoCIPK14* 可与 CBL1/2/3/4/9/10 等蛋白相互作用共同参与盐胁迫响应及钙调信号,进一步说明它们极有可能是调控生姜盐胁迫应答的核心枢纽基因。在水涝胁迫下,差异表达基因主要集中在根和根茎中,且所有在根与根茎中共同响应的基因均属于 CIPK 亚家族。这一发现与 CIPK 蛋白解码钙信号、调控离子稳态的核心功能完美契合,说明 CIPK 亚家族可能是生姜根系应对涝害导致的缺氧环境与离子平衡紊乱的关键基因。相比之下,在模拟的干旱(PEG)胁迫下,*ZoSnRK* 基因的表达无显著性差异,这可能反映了生姜

自身对于干旱较为敏感的特性。

3.2 结论

综上, 本研究通过生物信息学分析, 系统揭示了生姜 *ZoSnRK* 基因家族的进化、结构特征、功能分化及其在非生物胁迫响应中的核心作用。该家族通过片段复制事件实现扩张, 与姜目近缘物种(小果野蕉)进化关系紧密; 3 个亚家族(*SnRK1*、*SnRK2*、*CIPK*)在结构上明确分化, 分别对应能量感知、ABA 信号转导及钙信号-离子稳态调控功能, 构成了一个协同响应的分子网络。表达分析证实 *SnRK2* 与 *CIPK* 亚家族在生姜响应盐胁迫与水涝胁迫中扮演关键角色, 并表现出显著的组织特异性。后续研究可聚焦 *ZoSnRK2.5* 和 *ZoCIPK14* 等关键候选基因的功能验证, 深入解析其如何通过调控 ABA 信号或与 CBL 蛋白互作等分子机制, 从而为生姜抗逆分子育种提供直接靶点与理论支撑。

参考文献:

[1] 杨映, 张玲玲, 梁华儒, 等. 生姜种质资源耐干热性评价及其鉴定指标筛选 [J]. 中国生态农业学报(中英文), 2024, 32(5): 860-876.

[2] 尹军良, 李婧怡, 韩硕, 等. 生姜 *NHX* 基因家族成员鉴定及其在硅缓解盐胁迫中的表达特征 [J]. 中国农业科学, 2024, 57(19): 3848-3869.

[3] 杨培华, 田野, 郭昌权, 等. 外源 SiNPs 提升涝害胁迫下生姜生长及耐涝性 [J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2026, 46(1): 79-89.

[4] Ma L, Li J R, Li J F, et al. Plant salt-tolerance mechanisms: classic signaling pathways, emerging frontiers, and future perspectives [J]. *Molecular Plant*, 2026, 19(3): 538-570.

[5] Dichio C, Sofo A, Yaghoubi Khanghahi M, et al. Physiological and biochemical mechanisms of waterlogging tolerance in plants [J]. *Physiologia Plantarum*, 2025, 177(6): e70663.

[6] 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.

[7] 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.

[8] Zhang S J, Cui Z L, Gao Y, et al. *SnRK2.5*-mediated phosphorylation of *PIN2* links osmotic stress signaling to auxin-dependent root adaptive growth in *Arabidopsis* [J]. *Molecular Plant*, 2026, 19(2): 262-277.

[9] Son S, Park S R. The rice *SnRK* family: biological roles and cell signaling modules [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14: 1285485.

[10] Mondal S, Paul A, Mitra D, et al. The multifaceted role of different *SnRK* gene family members in regulating multiple abiotic stresses in plants [J]. *Physiologia Plantarum*, 2024, 176(5): e14543.

[11] Carianopol C S, Chan A L, Dong S W, et al. An abscisic acid-responsive protein interaction network for sucrose non-fermenting related kinase1 in abiotic stress response [J]. *Communications Biology*, 2020, 3: 145.

[12] Fu Y H, Chen C, Pei P, et al. The *SnRK1* kinase *TaSnRK1.10* positively regulates heavy metal chromium tolerance mainly by mediating reactive oxygen species homeostasis and activating the phenylpropanoid biosynthetic pathway in wheat [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2025, 491: 138035.

[13] Xu K, Wang P. *CpSnRK2.7* interacts with *CpPPP2Cs* to enhance salt tolerance via modulating oxidative stress in *Cucurbita pepo* [J]. *Plant Cell Reports*, 2025, 44(10): 220.

[14] Jiang S, Sun Z H, Feng Z K, et al. *ZmCIPK33* and *ZmSnRK2.10* mutually reinforce the abscisic acid signaling pathway for combating drought stress in maize [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2025, 67(7): 1787-1804.

[15] Li H L, Wu L, Dong Z M, et al. Haplotype-resolved genome of diploid ginger (*Zingiber officinale*) and its unique gingerol biosynthetic pathway [J]. *Horticulture Research*, 2021, 8: 189.

- [16] Liu D Q, Zhang P, Zhou T T, et al. Genome-wide characterization and expression analysis of the *bHLH* gene family in response to abiotic stresses in *Zingiber officinale* Roscoe [J]. BMC Genomics, 2025, 26(1): 143.
- [17] Li G, Ma J W, Yin J L, et al. Identification of reference genes for reverse transcription-quantitative PCR analysis of ginger under abiotic stress and for postharvest biology studies [J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 893495.
- [18] Belda-Palazón B, Adamo M, Valerio C, et al. A dual function of SnRK2 kinases in the regulation of SnRK1 and plant growth [J]. Nature Plants, 2020, 6(11): 1345-1353.
- [19] 张雪梅, 吴艳碧, 揭彤, 等. 生姜 *ZoNCED* 基因家族鉴定及表达分析 [J/OL]. 南京农业大学学报, (2025-09-15) [2026-02-01]. <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?filename=NJNY20250911001&dbname=CJFD&dbcode=CJFQ>.
- [20] Xu Q Z, Kong F J, Yang W Q. SnRK1 as the core node integrating energy homoeostasis, stress adaptation and hormonal crosstalk in plants [J]. Plant, Cell & Environment, 2025, 48(11): 7830-7847.
- [21] Jamsheer K M, Kumar M, Srivastava V. SNF1-related protein kinase 1: the many-faced signaling hub regulating developmental plasticity in plants [J]. Journal of Experimental Botany, 2021, 72(17): 6042-6065.
- [22] Zhou W, Qiao Y, Li R, et al. Comprehensive analysis of the sucrose nonfermenting 1-related protein kinase 2 gene family in broomcorn millet (*Panicum miliaceum* L.) under abiotic stress conditions [J]. BMC Genomics, 2025, 26(1): 797.
- [23] Lin Z, Li Y, Wang Y B, et al. Initiation and amplification of SnRK2 activation in abscisic acid signaling [J]. Nature Communications, 2021, 12: 2456.
- [24] Wang C C, Huang Q X, Gu J F, et al. Genome-wide identification of the CIPK family in sunflower (*Helianthus annuus* L.) and functional analysis of *HaCIPK18* in salt tolerance [J]. Plant Science, 2026, 362: 112846.
- [25] Li K L, Xue H, Tang R J, et al. TORC pathway intersects with a calcium sensor kinase network to regulate potassium sensing in *Arabidopsis* [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2023, 120(47): e2316011120.
- [26] Li K L, Xue H, Tang R J, et al. A calcium sensor kinase pathway interacts with the TOR complex to balance growth and salt tolerance in *Arabidopsis* [J]. The Plant Cell, 2025, 37(7): koaf103.
- [27] Zheng H F, Xie Y L, Mu C H, et al. Deciphering the regulatory role of *PheSnRK* genes in Moso bamboo: insights into hormonal, energy, and stress responses [J]. BMC Genomics, 2024, 25(1): 252.
- [28] Fujita Y, Yoshida T, Yamaguchi-Shinozaki K. Pivotal role of the AREB/ABF-SnRK2 pathway in ABRE-mediated transcription in response to osmotic stress in plants [J]. Physiologia Plantarum, 2013, 147(1): 15-27.

责任编辑 王新娟