

菠萝 AcoCPKs 家族基因鉴定及表达分析

陈林攀^{1,2}, 张妙林², 姚艳丽², 侯晓婉^{2,3}, 吴青松², 贺军军², 马武强¹, 李川玲^{2*}, 张秀梅^{2,3*}

1. 海南大学热带农林学院, 海南海口 570228; 2. 中国热带农业科学院南亚热带作物研究所/农业农村部热带果树生物学重点实验室/海南省热带园艺产品采后生理与保鲜重点实验室, 广东湛江 524091; 3. 中国热带农业科学院三亚研究院, 海南三亚 572025

摘要: 钙依赖性蛋白激酶 (calcium-dependent protein kinases, CPKs) 是植物特有的重要信号转导因子, 在重要热带经济作物菠萝中, CPKs 基因家族的鉴定、分类及功能研究仍处于起步阶段, 其参与逆境响应的分子机制尚不清晰, 难以满足菠萝抗逆品种改良的实践需求。本研究综合运用基因组学分析、染色体定位、生物信息学预测及 qRT-PCR 等分子生物学技术, 对菠萝 AcoCPKs 基因家族进行系统研究。结果显示: 从基因组水平共鉴定出 18 个 AcoCPKs 基因家族成员, 这些 AcoCPKs 不均匀地分布于菠萝的 9 条染色体上。生物信息学分析显示, 所有 AcoCPKs 蛋白均具有相似的保守基序与结构域特征。定量实时荧光 PCR (qRT-PCR) 表达分析进一步表明, 18 个 AcoCPKs 基因在果实、叶片、果柄和花蕾等不同组织中均有表达, 且呈现明显的组织特异性; 其中部分 AcoCPKs 基因在高温、低温及 NaCl 盐胁迫处理条件下转录水平显著上调。综上, 本研究系统解析了菠萝 AcoCPKs 基因家族成员的理化性质、遗传特征及其在逆境胁迫下的表达响应规律, 不仅为深入揭示 AcoCPKs 介导的菠萝逆境响应分子机制提供重要理论依据, 也为利用基因编辑、转基因等现代分子育种技术定向提升菠萝抗逆性、培育耐逆性强的优质新品种奠定坚实基础。

关键词: 菠萝; AcoCPKs; 生物信息学分析; qRT-PCR; 逆境胁迫

中图分类号: S668.3 文献标志码: A

Bioinformatics and Expression Analysis of the AcoCPKs Gene Family in Pineapple

CHEN Linpan^{1,2}, ZHANG Miaolin², YAO Yanli², HOU Xiaowan^{2,3}, WU Qingsong², HE Junjun², MA Wuqiang¹, LI Chuanling^{2*}, ZHANG Xiumei^{2,3*}

1. School of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China; 2. Institute of South Subtropical Crops, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / Key Laboratory of Tropical Fruit Biology, Ministry of Agriculture and Rural Affairs / Key Laboratory of Postharvest Physiology and Preservation of Tropical Horticultural Products, Hainan Province, Zhanjiang, Guangdong 524091, China; 3. Sanya Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Sanya, Hainan 572025, China

Abstract: Calcium-dependent protein kinases (CPKs) are a class of plant-specific key signal transduction factors. In pineapple, an important tropical economic crop, the identification, classification, and functional characterization of the CPKs gene family are still in their infancy, and the molecular mechanisms by which they participate in stress responses remain unclear, which limits their application in the improvement of stress-resistant pineapple varieties. In this study, we systematically investigated the AcoCPKs gene family in pineapple by integrating genomic analysis, chromosomal

收稿日期 2025-08-29; 接受日期 2025-10-18

基金项目 以农产品为单元的广东省现代农业产业技术体系创新团队建设项目 (优稀水果产业技术体系) (No. 2024CXTD09); 海南省自然科学基金项目 (No. 325QN421); 海南省热带作物资源遗传改良与创新重点实验室项目 (No. 1630032025026)。

作者简介 陈林攀 (2000—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 菠萝抗病关键基因挖掘。*通信作者 (Corresponding author): 张秀梅 (ZHANG Xiumei), E-mail: asiazhang1975@163.com; 李川玲 (LI Chuanling), E-mail: chuanlingzz@163.com。

localization, bioinformatic prediction, and qRT-PCR-based molecular approaches. A total of 18 AcoCPKs family members were identified at the whole-genome level in pineapple. Chromosomal mapping showed that these AcoCPKs genes are unevenly distributed across the nine chromosomes of pineapple. Bioinformatic analysis revealed that all AcoCPKs sroteins share similar conserved motifs and domain architectures. qRT-PCR expression profiling further demonstrated that the 18 AcoCPKs genes are expressed in multiple tissues, including fruits, leaves, fruit peduncles, and flower buds, with distinct tissue-specific expression patterns; moreover, the transcription levels of several AcoCPKs genes were markedly up-regulated under high-temperature, low-temperature, and NaCl salt stress treatments. Taken together, this study systematically elucidates the physicochemical properties, genetic characteristics, and stress-responsive expression patterns of members of the AcoCPKs gene family in pineapple. These findings not only provide an important theoretical basis for further dissecting the molecular mechanisms underlying AcoCPKs-mediated stress responses in pineapple, but also lay a solid foundation for the targeted improvement of stress tolerance and the breeding of high-quality, stress-resistant pineapple cultivars through gene editing, transgenic approaches, and other modern molecular breeding technologies.

Keywords: pineapple; AcoCPKs; bioinformatics analysis; qRT-PCR; abiotic stress

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2026.01.016

植物从萌芽、成熟到繁殖的整个生命周期中, 会持续面临多种生物或非生物胁迫^[1]。为应对不断变化的环境挑战, 植物在长期的进化过程中形成了一套复杂的防御机制, 这种机制很大程度上依赖于精密的信号转导和分子调控网络^[2]。钙离子 (Ca^{2+}) 作为一种重要的信号分子, 在植物逆境胁迫响应中发挥重要作用, 是逆境应答的核心调控因子^[3-4]。当植物细胞受到外界逆境胁迫时, 细胞外的 Ca^{2+} 会迅速进入细胞, 导致细胞质内钙离子浓度短暂而剧烈的升高, 这一变化可被钙依赖性蛋白激酶 (calcium dependent protein kinases, CPKs) 等钙信号感受器识别, 并通过特异的蛋白磷酸化级联反应启动下游信号转导途径^[5-6]。

钙依赖性蛋白激酶 (CPKs) 是植物中一种重要的钙信号感受器, 属于典型的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶^[7], 具有 4 个特征性结构域: 钙离子结合结构域 (calcium-binding domain, CBD)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶结构域 (protein kinase domain, PKD)、自抑制连接区 (autoinhibitory junction, AJ) 以及 N 端可变结构域 (NTD) (N-terminal variable domain)^[8-9]。CPKs 作为植物响应环境胁迫的关键调控因子, 在植物逆境反应中发挥核心作用^[10], 钙离子通过与 CPKs 的钙离子结合结构域 (CBD) 结合, 改变 CPKs 的三维结构, 进而激活其激酶功能^[11-12]。激活后的 CPKs 会通过磷酸化作用调控下游的效应分子, 从而启动植物的防御反应^[13]。研究发现, CPKs 广泛存在于植物、原生生物、卵菌和绿藻中, 但在动物和真菌中尚未发现类似基因^[14-15]。例如, 拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 中

已鉴定出 34 个 CPKs 基因^[16], 其中一些 CPKs 在响应干旱、盐胁迫等非生物胁迫时发挥了重要的调控作用^[17-18]。

随着基因组学和生物信息学技术的发展, 越来越多的 CPKs 基因被鉴定、分析, 但菠萝 (*Ananas comosus*) 中 AcoCPKs 家族的研究较少。本研究基于 2024 年最新发布的菠萝基因组数据库, 通过生物信息学方法成功鉴定了 18 个 AcoCPKs 家族基因, 并对这些基因的理化性质、结构特性及对高温、低温、盐胁迫响应进行系统分析。该研究不仅为后续深入探究 AcoCPKs 基因在菠萝逆境胁迫响应中的分子机制提供重要理论支撑, 也为借助基因编辑、转基因等分子育种技术改良菠萝的抗逆性、培育耐逆性强的菠萝新种质奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为巴厘菠萝品种 (Comte de Paris), 种植于中国热带农业科学院南亚热带作物研究所 (21°10'02"N, 110°16'34"E)^[19]。

将巴厘菠萝的愈伤组织在 B_2N_1 培养基 (4.74 g MS、7 g Agar、30 g 蔗糖、250 μL 2 mol/L NaOH、2 mL BA、1 mL NAA、1000 mL 水) 培养 5 d, 以获得生长状态一致的愈伤组织。分别置于 4 °C 培养箱 (低温胁迫)、37 °C 培养箱 (高温胁迫) 和含有 8.78 g/L NaCl 的 B_2N_1 培养基 (盐胁迫), 分别处理 0 h (对照) 和 24 h 后收集样品, 用于 AcoCPKs 家族基因的 qRT-PCR 定量检测。

采收巴厘菠萝现红期植株的茎、老叶、幼叶、

果柄、花蕾以及成熟期的菠萝果实等不同组织，用于 AcoCPKs 家族基因定量检测。

1.2 方法

1.2.1 AcoCPKs 基因家族成员鉴定 利用菠萝基因组数据库（<https://ananas.watchbio.cn>）获取菠萝全基因组序列数据。利用 Pineapple Genomics Database（<http://pineapple.zhangjisenlab.cn/pineapple/html/index.html>）数据库获取菠萝 CPKs 家族的全基因组序列。通过 EMBOSS（https://www.ebi.ac.uk/jdispatcher/psa/emboss_needle）在线软件进行序列比对，最终筛选出 18 个 AcoCPKs 基因家族成员，并对筛选基因进行重新命名。

1.2.2 染色体定位分析 使用 TBtools-II 软件的 Gene Location Visualize from GTF/GFF 插件进行染色体位置的可视化分析。

1.2.3 AcoCPKs 蛋白质特性分析 利用 TBtools 软件的 Protein Parameter Calc 插件预测对 AcoCPKs 蛋白的特性^[20]，包括氨基酸数量、分子量(MW)和等电点(pI)。通过 DeepLoc 2.1(<https://services.healthtech.dtu.dk/services/DeepLoc-2.1>)在线软件预测亚细胞定位。

1.2.4 AcoCPKs 蛋白系统发育树构建 使用 MEGA1 2.0 软件，采用邻接法(Neighbor-Joining)构建 AcoCPKs 蛋白序列系统进化树^[21]。利用在线网站 iTOL（<https://itol.embl.de/itol.cgi>）进行系统进化树的美化。

1.2.5 AcoCPKs 基因家族 motif 和基因结构分析 利用 NCBI Batch Web CD-Search tool(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/bwrpsb/bwrpsb.cgi>) 在线软件确认蛋白激酶区域是否同时存在 Protein kinase 结构域和 EF 手性结构。利用 MEME(<https://meme-suite.org/meme/tools/meme>) 在线软件分析 AcoCPKs 蛋白保守 motif，使 motif 和基因结构可视化。

1.2.6 结构域分析 使用在线软件 TBtools-II 软件的 Gene Structure View（Advanced）插件进行 AcoCPKs 蛋白结构分析的可视化。

1.2.7 基因表达分析 使用 qRT-PCR 进一步分析菠萝响应不同胁迫下 AcoCPKs 基因的表达情况，采用上海普洛麦格（Promega）公司的 Eastep Super RNA 提取试剂盒提取总 RNA。使用北京艾德莱生物科技（Aidlab）公司的 TRUE script RT Master Mix 试剂盒进行 RNA 的反转录。使用北京艾德莱生物科技公司的 2×SYBR Green qPCR Mix

（High ROX）Sybr green 荧光染料试剂进行 qRT-PCR 反应。以鉴定的 18 个 AcoCPKs 基因序列为参考设计 qRT-PCR 引物，以菠萝 Actin 为内参基因（表 1），每个样品进行 3 个生物学重复。基因相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算^[22]。

表 1 菠萝 AcoCPKs 及内参基因引物序列
Tab. 1 Primer sequences of AcoCPKs and reference genes in pineapple

基因名称 Gene name	上游引物序列（5'-3'） Forward primer sequence (5'-3')	下游引物序列（5'-3'） Reverse primer sequence (5'-3')
AcoCPK1	GGCACTATTGACTATG GAGAATT	ATCAGTGAGGCCGA ATTCTC
AcoCPK2	GCTACTTTGACAAGAA CGGGA	ATTCCTCCAGTCTGT TCCAGC
AcoCPK3	GTGGGTGCTAATCTCA AGGAA	GGCTATGAACTCGC CGTAAT
AcoCPK4	GCCTTAAAGGTCGTCG CAG	GTACCCAATTTTGG TAAACCGG
AcoCPK5	GATGGACGGATCAGC TATGATG	GAGGCTGTTGAATC TTCCTCTC
AcoCPK6	GCCTGTGAGGAGTTTG GTATAG	CATTGTAGTCGATC CTTCCATCA
AcoCPK7	CGAGATCCAGATTATG CACCA	CCTCTCTGTATGATT CTGTCGAA
AcoCPK8	GAACATTTGGTAGCGG CATT	TCGGTCATGTTATG CTCCTTAC
AcoCPK9	AGTCGTCGGAAGTCCC TATTA	CCGCATAGCAAGAT GTAGAGAA
AcoCPK10	GAGAACTTCCTCCTGG TCAATAA	CAGTACCTCAGGAG CAACATAG
AcoCPK11	CGGTACAATCACCCCTT GAAGAA	CTACATCAGCTGCC TCCATAAG
AcoCPK12	CCTATTAAAAATCGACA AAGGAGG	AACATCTGATTTCAG GGCCA
AcoCPK13	CGAAGAATTGAGAGA AGCCCT	CATCGCTACAAACT CCTCG
AcoCPK14	CATGGCTCCGGAAGTT CTAAA	AGGGACTCCACAAA GAAGAATG
AcoCPK15	GTGGAAGAAGTAGCC GACATAA	TCCAAGCTTACGAA GACCATAC
AcoCPK16	CTGCTGATGCTGATGG AAATG	GCTCCTCTCTGTCCA TTCTATT
AcoCPK17	CTTCCTATTGCTGTTG AGGAT	ATCTTTCTCACTGTA GCGG
AcoCPK18	ATTTCAGCATCTCATC GAGGTG	TGGCAAGGCCGAAA TCTG
Actin	GTATGGAAGCTGCGG GTATT	CACCACTGAGCACG ATGTTA

2 结果与分析

2.1 菠萝基因组中 AcoCPKs 基因的鉴定

本研究基于 2024 年最新发布的菠萝 *Yugafu. 3C* 基因组，对钙依赖蛋白激酶（CPKs）基因家族进行全基因组鉴定，共鉴定出 18 个 AcoCPKs

基因,命名为 *AcoCPK1~AcoCPK18* (表 1)。菠萝基因组共 25 条染色体, *AcoCPKs* 基因在菠萝基因组中呈现不均匀分布特征,分布于 9 条染色体上,其中 9 号染色体分布最为密集,包含 4 个 *AcoCPKs* 基因 (图 1)。

AcoCPKs 理化性质分析显示,该家族蛋白长度介于 304~654 个氨基酸之间,分子量范围为 33.38~70.96 kDa,理论等电点 (pI) 跨度较大 (5.03~8.25),表明该家族包含从酸性到碱性的多样化蛋白成员 (表 2)。

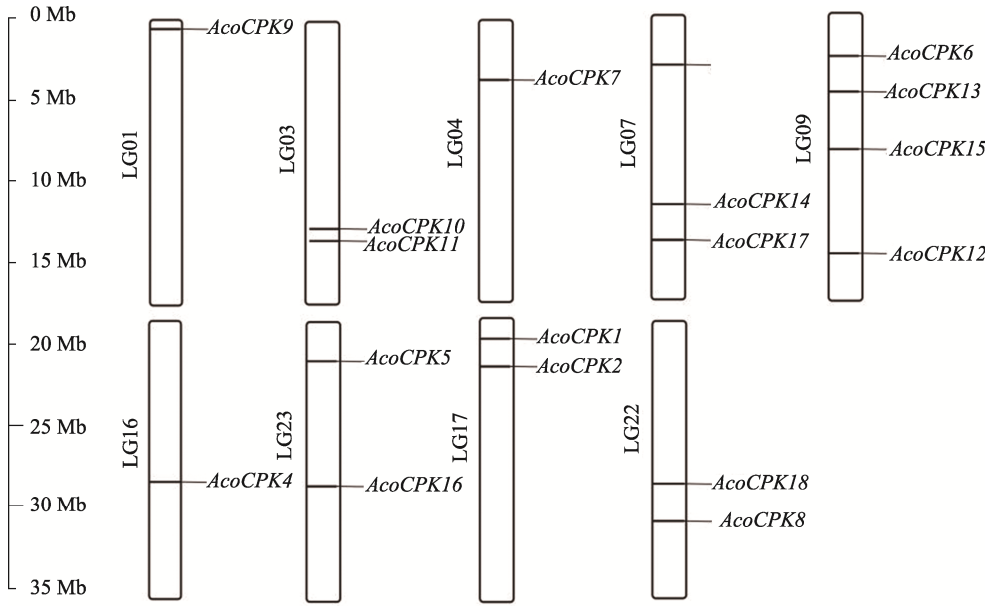


图 1 *AcoCPKs* 基因分布染色体位置
Fig. 1 Chromosomal locations of *AcoCPKs* gene

表 2 *AcoCPKs* 理化性质分析
Tab. 2 Analysis of physical and chemical properties of *AcoCPKs*

基因名称 Gene name	基因 ID Gene ID	染色体位置 Chromosome location	长度 Length/bp	外显子 Exon	氨基酸 Amino acid	分子量 Molecular weight /Da	等电点 pI
<i>AcoCPK1</i>	Aco3.3C17g0156.1	LG17:1215807-1221063	1434	7	477	53 340.23	5.03
<i>AcoCPK2</i>	Aco3.3C17g0364.1	LG17:3008393-3012703	1755	8	584	65 086.43	5.72
<i>AcoCPK3</i>	Aco3.3C07g0372.1	LG07:2475391-2479048	1698	7	565	62 700.36	5.37
<i>AcoCPK4</i>	Aco3.3C16g1150.1	LG16:9233893-9238494	1668	8	555	62 555.3	5.89
<i>AcoCPK5</i>	Aco3.3C23g0305.1	LG23:1293188-1299818	1665	8	554	61 906.25	6.31
<i>AcoCPK6</i>	Aco3.3C09g0347.1	LG09:2137407-2143804	1965	9	654	70 964.11	5.75
<i>AcoCPK7</i>	Aco3.3C04g0486.1	LG04:3429183-3437184	1911	9	636	69 847.76	5.41
<i>AcoCPK8</i>	Aco3.3C22g1274.1	LG22:8479722-8485798	1641	8	546	59 996.06	5.37
<i>AcoCPK9</i>	Aco3.3C24g0019.1	LG01:11817937-11821313	1815	8	604	67 446.78	5.67
<i>AcoCPK10</i>	Aco3.3C03g1889.1	LG03:13480443-13486593	1671	7	556	61 783.45	5.83
<i>AcoCPK11</i>	Aco3.3C03g1979.1	LG03:14204424-14207595	1569	8	522	58 314.1	5.81
<i>AcoCPK12</i>	Aco3.3C09g1825.1	LG09:11169837-11176123	1617	12	538	60 514.61	8.08
<i>AcoCPK13</i>	Aco3.3C09g0576.1	LG09:3850655-3857485	1653	7	550	61 949.42	5.89
<i>AcoCPK14</i>	Aco3.3C07g1230.1	LG07:6917777-6923722	1653	9	550	61 568.34	7.25
<i>AcoCPK15</i>	Aco3.3C09g1032.1	LG09:6968222-6974752	1628	8	541	60 275.62	8.25
<i>AcoCPK16</i>	Aco3.3C23g1256.1	LG23:6386682-6390137	1389	8	462	52 205.6	5.58
<i>AcoCPK17</i>	Aco3.3C07g1428.1	LG07:7636228-7656082	1434	13	472	53 263.56	7.29
<i>AcoCPK18</i>	Aco3.3C22g1040.1	LG22:6452665-6457829	915	5	304	33 380.39	5.77

2.2 菠萝、拟南芥和水稻 CPKs 系统发育树分析

为解析菠萝 AcoCPKs 的进化关系,本研究基于 MEGA 12 软件构建包含菠萝、拟南芥和水稻 (*Oryza sativa*) 3 个物种 CPKs 蛋白的系统发育

树 (图 2)。所有 CPKs 蛋白分为 6 个分支 (Clade I~VI), 菠萝 CPKs 成员的分布呈现明显偏好性: Clade IV 和 Clade VI 分别包含 7 个和 5 个 AcoCPKs 成员, 占总成员的 66.7%。

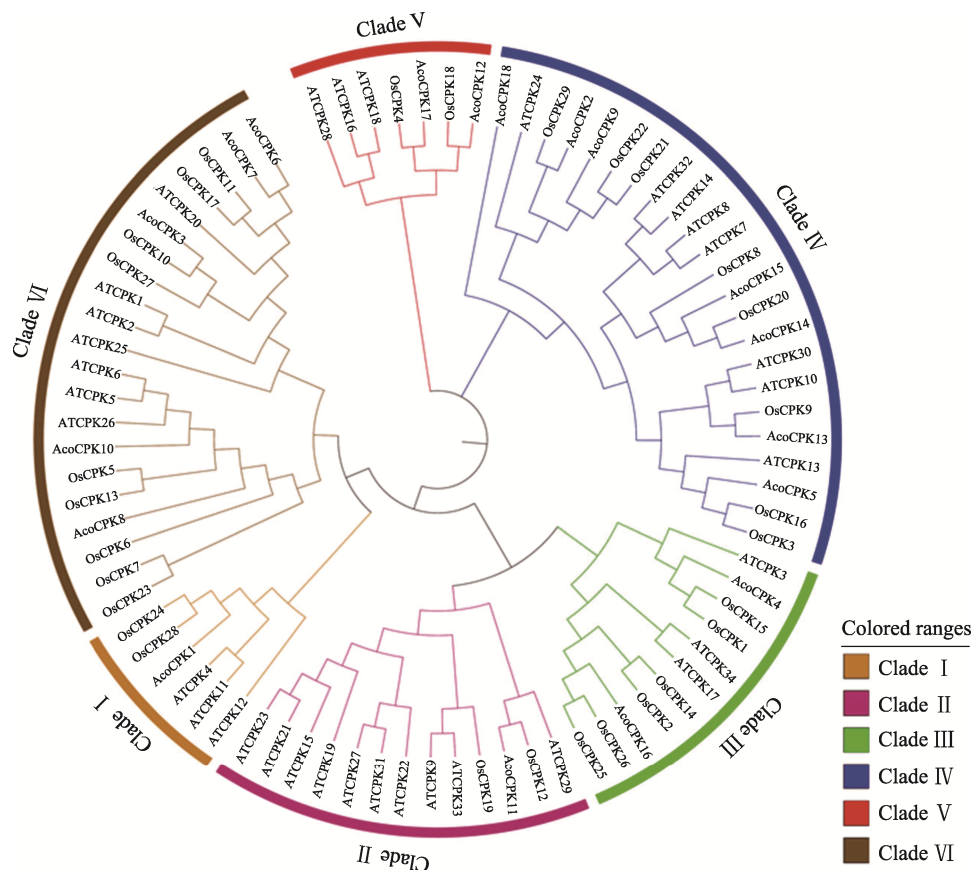


图 2 菠萝、拟南芥和水稻中 CPKs 家族基因系统发育进化树

Fig. 2 Phylogenetic tree of CPKs gene family in pineapple, *Arabidopsis* and rice

2.3 AcoCPKs 的保守基序、蛋白结构分析

为了深入解析 18 个 AcoCPKs 家族成员的进化特征,本研究对其保守基序及保守蛋白结构域进行了系统分析 (图 3)。保守基序分析鉴定出 10 个特征性基序 (motif 1~10), AcoCPKs 成员所含基序数量存在显著差异 (5~10 个不等), 50.0% (9/18) 的 AcoCPKs 包含 9 个保守基序, 33.3% (6/18) 的 AcoCPKs 包含全部 10 个保守基序, 而 AcoCPK18 仅保留 5 个核心基序, AcoCPK1 和 AcoCPK17 则分别缺失 2 个和 3 个基序。此外, 66.7% (12/18) 的 AcoCPKs 成员具有 PTZ00184 超家族结构域, 且结构域长度差异不大。

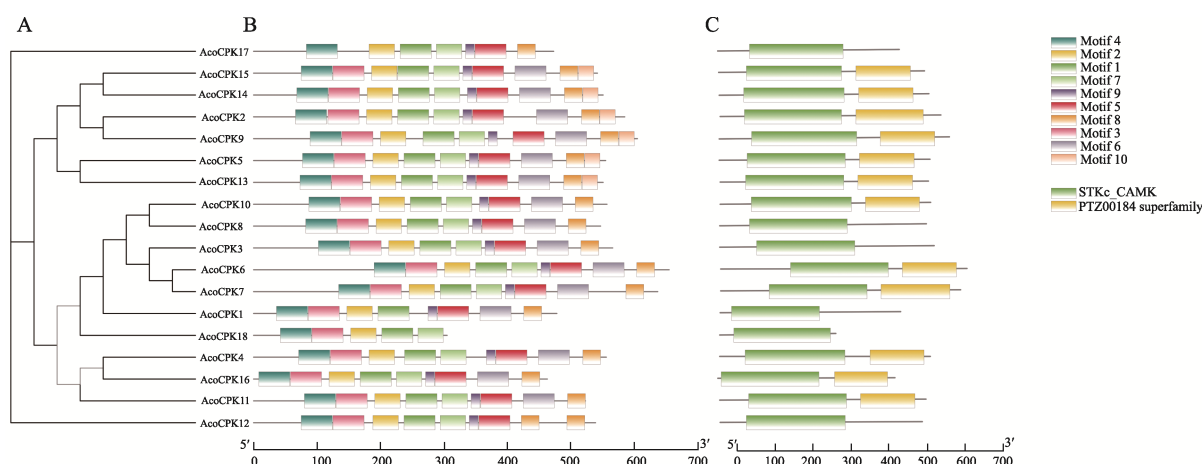
2.4 AcoCPKs 基因在菠萝不同组织中的转录水平

为了进一步揭示 AcoCPKs 基因的生物学特

性,采用 qRT-PCR 技术检测 18 个 AcoCPKs 基因在菠萝果实 (Fr)、茎 (St)、老叶 (ML)、幼叶 (IML)、果柄 (Ped)、花蕾 (Inf) 等不同组织中的转录水平 (图 4)。结果显示, AcoCPK1、AcoCPK2、AcoCPK4 和 AcoCPK15 在菠萝果实中的表达量最高, 推测其可能在菠萝果实中发挥作用。AcoCPK5、AcoCPK6、AcoCPK8 和 AcoCPK16 在菠萝茎中的表达量最高, AcoCPK3、AcoCPK9 和 AcoCPK11 则在果柄中的表达量最高。AcoCPKs 在菠萝各个组织中的差异表达表明其在植物生长发育、信号调控和环境适应中的多重功能。

2.5 AcoCPKs 在温度胁迫下的转录水平

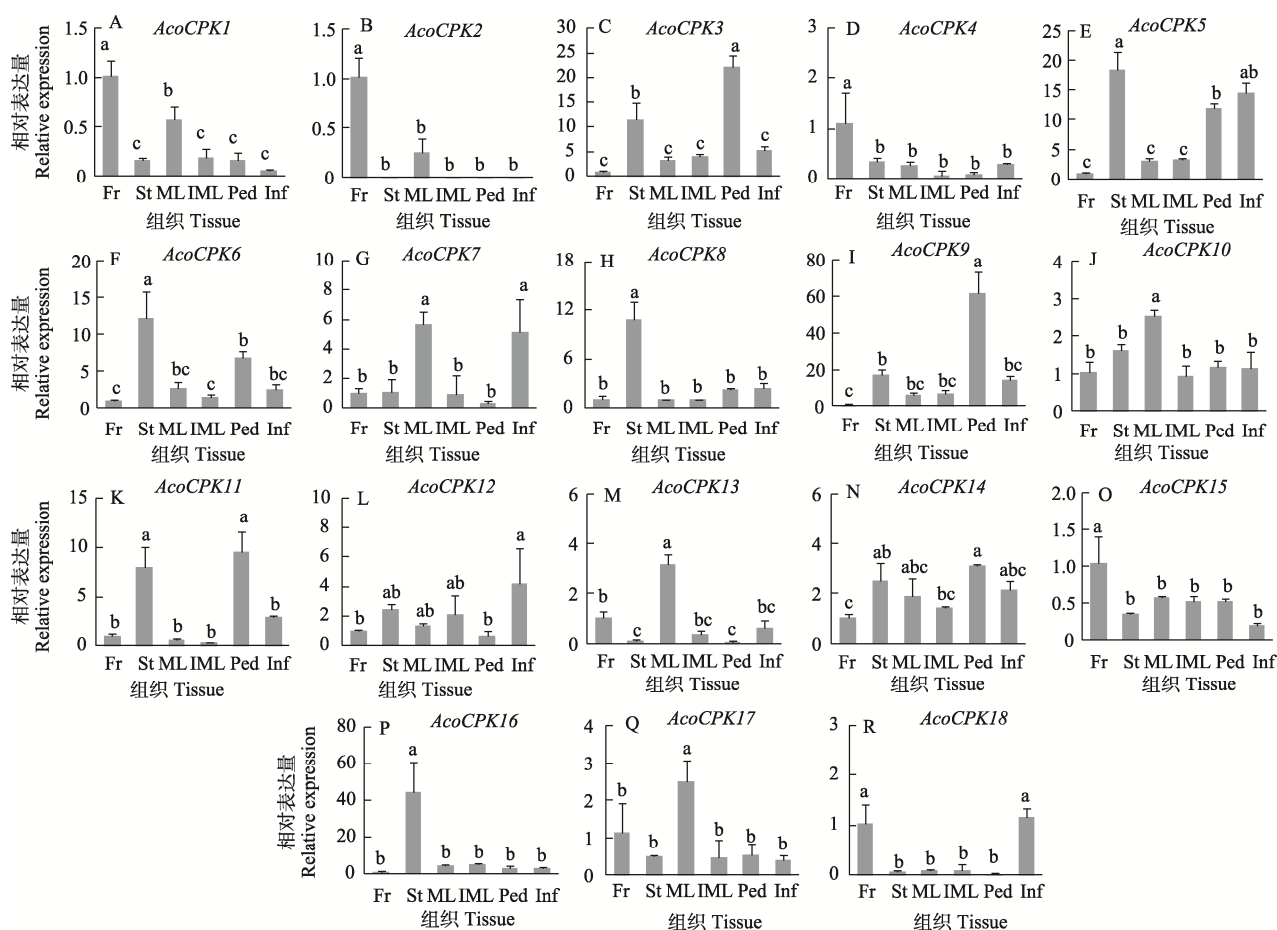
AcoCPKs 在低温处理下的转录水平分析结果显示, 多个 AcoCPKs 在低温胁迫下表现出明显的上调或下调表达模式。其中 AcoCPK3、AcoCPK4、



A: AcoCPKs 蛋白系统发育进化树; B: AcoCPKs 蛋白保守基序; C: AcoCPKs 蛋白结构域。
A: Phylogenetic tree of AcoCPKs proteins; B: Conserved motifs of AcoCPKs proteins; C: Protein structure of AcoCPKs.

图 3 菠萝 CPKs 进化树保守基序和蛋白结构分析

Fig. 3 Conserved motifs and protein structure analysis of CPKs in pineapple



不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$).

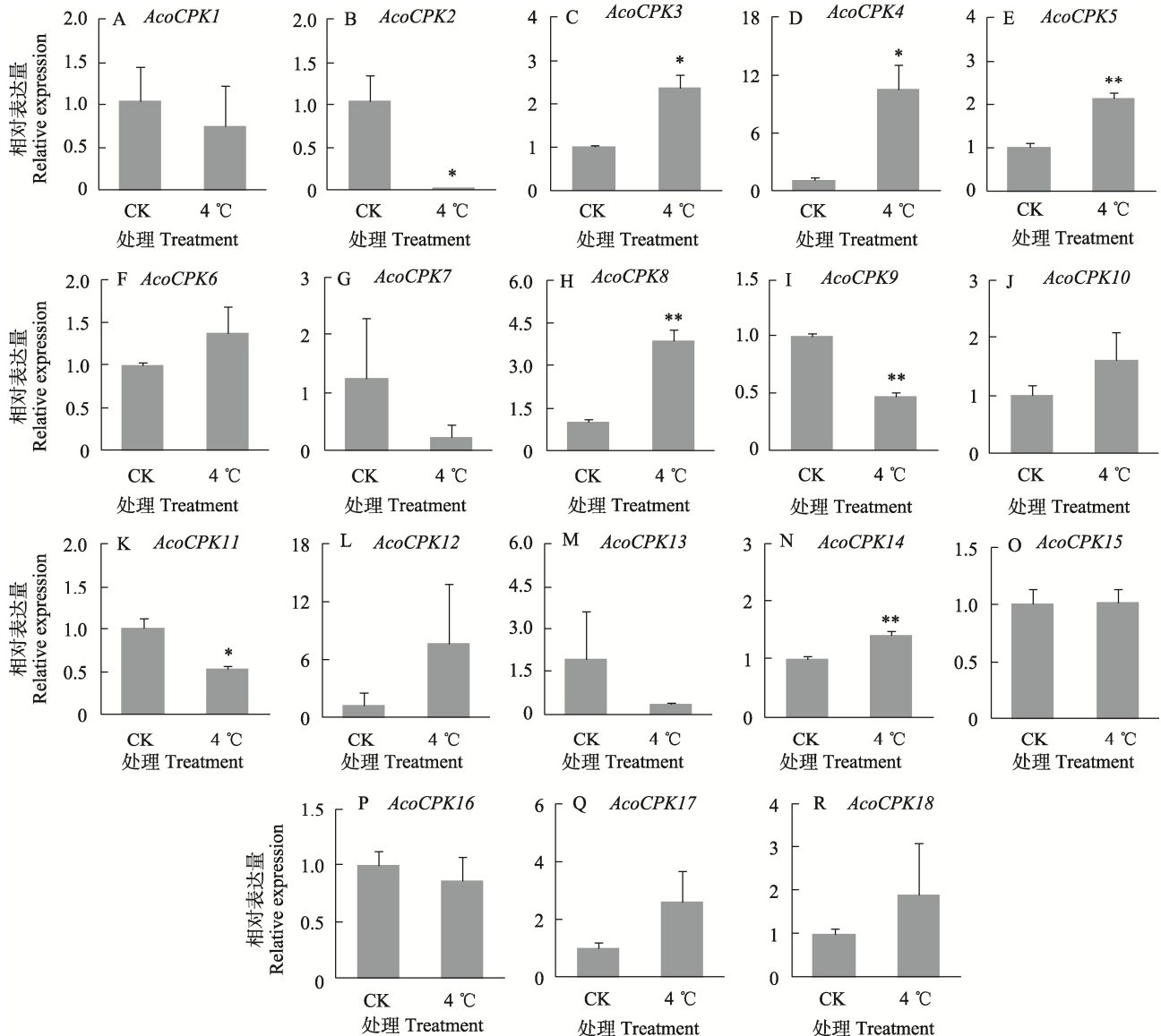
图 4 AcoCPKs 基因在菠萝不同组织中的转录水平

Fig. 4 Transcriptional levels of AcoCPKs genes in different tissues of pineapple

AcoCPK5、AcoCPK8 和 AcoCPK14 基因的表达量受低温诱导显著升高, AcoCPK2、AcoCPK9 和 AcoCPK11 的转录水平则受低温胁迫抑制, 推测

这些基因可能在植物响应低温胁迫中发挥重要作用 (图 5)。

在高温诱导条件下, AcoCPK2、AcoCPK3、



*表示差异显著 ($P < 0.05$), **表示差异极显著 ($P < 0.01$)。

* indicates significant difference ($P < 0.05$), ** indicates extremely significant difference ($P < 0.01$).

图 5 AcoCPKs 基因在低温诱导下的转录水平

Fig. 5 Transcriptional levels of AcoCPKs genes under low temperature induction

AcoCPK5、AcoCPK6、AcoCPK9 及 AcoCPK15 的转录水平受高温胁迫显著抑制，AcoCPK12 及 AcoCPK16 的转录水平受高温胁迫诱导显著升高（图 6）。该结果表明，高温对 AcoCPKs 的转录活性有显著的调节作用，这些基因可能通过参与植物的应激响应机制，协同调控菠萝对高温胁迫的适应性，帮助其维持生长和生理功能。

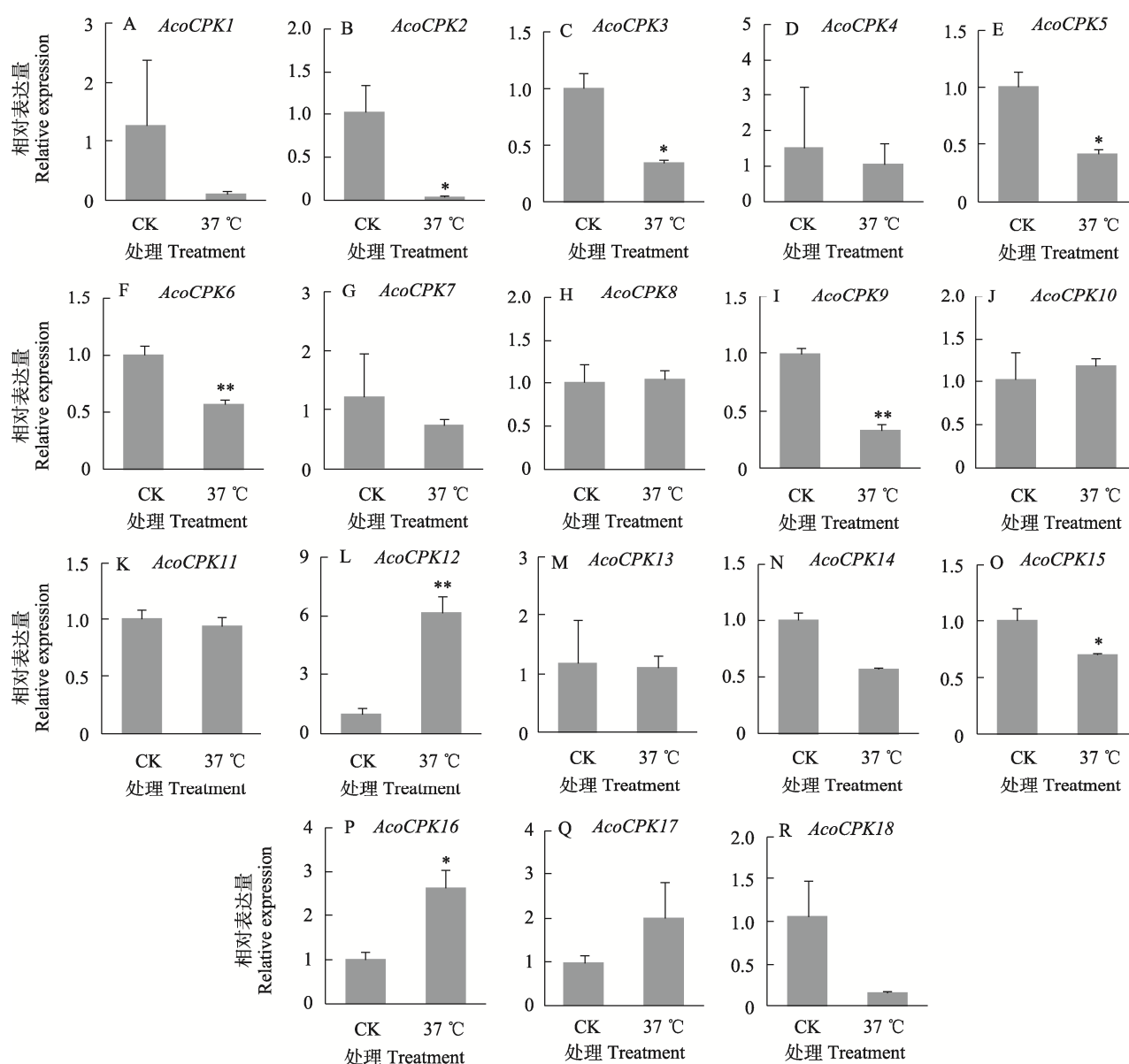
2.6 AcoCPKs 受外源钠诱导的转录水平

NaCl 胁迫处理后，AcoCPK8、AcoCPK10、AcoCPK15 和 AcoCPK16 的转录水平显著升高，推测其可能正调控菠萝对盐胁迫的响应，AcoCPK1、AcoCPK5、AcoCPK7 和 AcoCPK18 在

NaCl 胁迫处理后的转录水平显著下调，推测其可能在菠萝盐胁迫响应中发挥负调节功能（图 7）。

3 讨论

钙依赖性蛋白激酶（CPKs）在植物对环境胁迫的响应中发挥着重要作用，尤其是在植物应对盐、干旱、温度等胁迫时，钙信号的激活与调控发挥至关重要的作用^[5, 7]。钙信号作为一种广泛的细胞信号，能够通过钙离子的流动迅速传递外部胁迫信息^[4]，而 CPKs 则在这一信号传导过程中发挥核心调节作用^[6]。研究表明，植物中的许多 CPKs 基因在逆境胁迫下会被激活，进而调控下游



*表示差异显著 ($P < 0.05$), **表示差异极显著 ($P < 0.01$)。

* indicates significant difference ($P < 0.05$), ** indicates extremely significant difference ($P < 0.01$).

图 6 AcoCPKs 基因在高温诱导下的转录水平

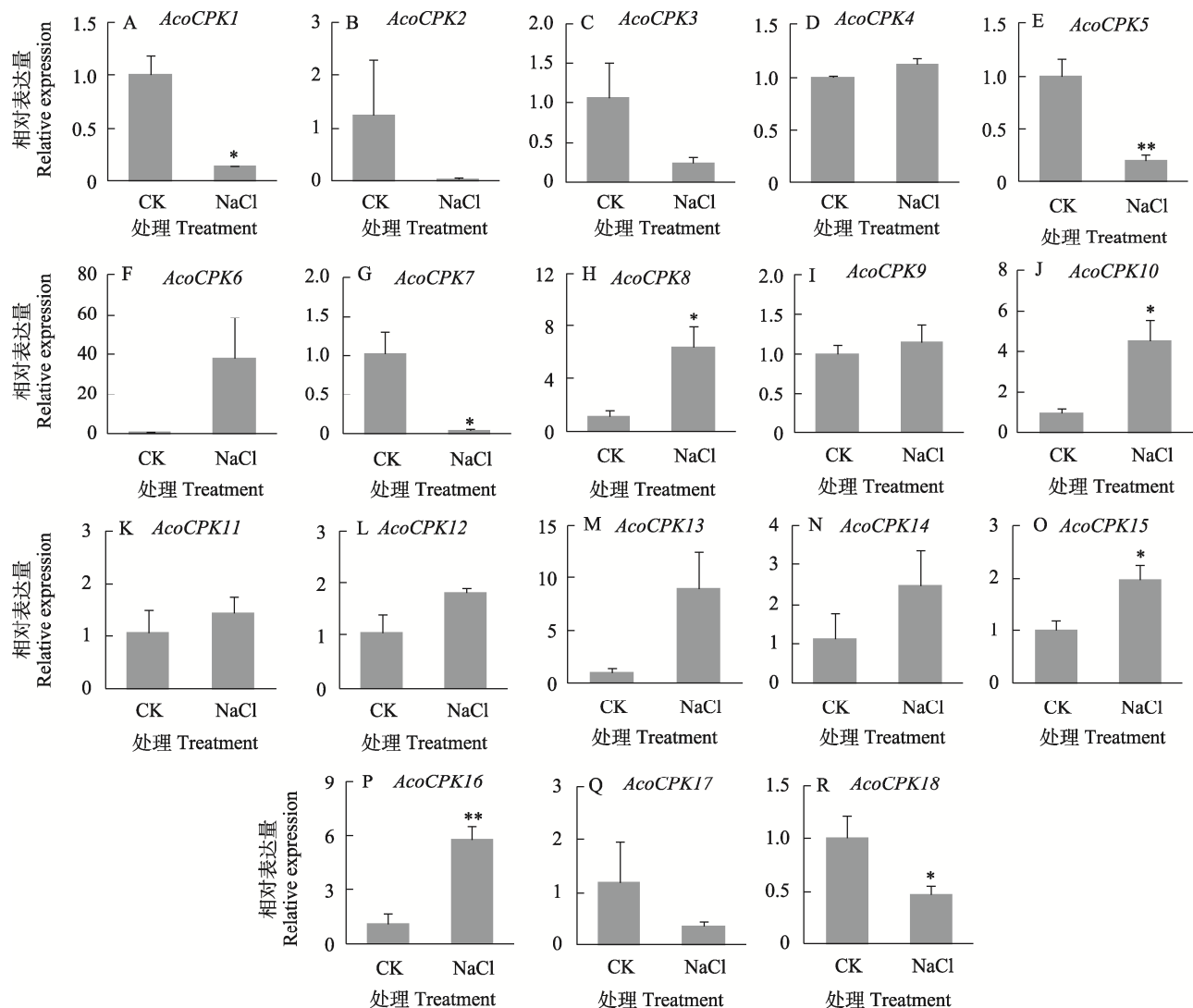
Fig. 6 Transcriptional levels of AcoCPKs genes under high temperature induction

的抗逆基因,从而提高植物的抗逆性^[23]。

随着基因组学研究的深入,不同物种的 CPKs 基因家族已被系统解析,如拟南芥中有 34 个 CPKs^[16]、水稻中有 29 个 CPKs^[24]。本研究基于最新的 YugaFu.3C 基因组数据,共鉴定出 18 个 AcoCPKs,从染色体分布来看, AcoCPKs 呈不均匀分布,且多集中在 9 号染色体上,推测可能与串联重复或片段复制相关。基因复制作为家族扩张的重要动力,可能促进其功能分化并增强菠萝对热带环境的适应性。系统发育分析表明,18 个 AcoCPKs 可分为 6 个进化分支,其中 Clade IV 与

VI 占比近 2/3,表现出显著的分支偏好性。类似现象在拟南芥和水稻中亦有报道,常与胁迫响应和激素信号密切相关。结构域与基序分析显示,大部分 AcoCPKs 保留典型激酶结构和 Ca^{2+} 结合位点,证明其在维持核心功能上的保守性,而少数成员如 AcoCPK1、AcoCPK17 和 AcoCPK18 存在基序缺失,可能发生功能分化或退化。这些特征为进一步探索菠萝 CPKs 基因在生长发育与环境适应中的作用提供了重要线索。

本研究系统分析了 AcoCPKs 基因家族在不同组织及多种胁迫条件下的转录特征,结果表明,



*表示差异显著 ($P<0.05$), **表示差异极显著 ($P<0.01$)。

* indicates significant difference ($P<0.05$), ** indicates extremely significant difference ($P<0.01$).

图 7 AcoCPKs 基因受 NaCl 胁迫诱导后的转录水平

Fig. 7 Transcription levels of AcoCPKs genes under NaCl stress

该基因家族成员在组织特异性表达及逆境响应中具有显著差异性。在组织表达方面, AcoCPK1、AcoCPK2、AcoCPK4 和 AcoCPK15 在果实中高表达, 推测其可能调控果实发育与品质形成; 而 AcoCPK5、AcoCPK6、AcoCPK8 和 AcoCPK16 在茎中高表达, 推测其可能与养分运输或信号传导相关。在低温胁迫下, 部分基因 (如 AcoCPK3、AcoCPK4、AcoCPK5、AcoCPK8 和 AcoCPK14) 显著上调, 推测其在低温信号感知及耐寒机制中发挥正调控作用; 而 AcoCPK2、AcoCPK9 和 AcoCPK11 显著下调, 推测其可能负向调节低温适应。高温处理则引起 AcoCPK2、AcoCPK3、AcoCPK5 等多个基因的表达下调, 而 AcoCPK12、AcoCPK16 上调, 表明其可能在耐热过程中具有

关键作用。此外, 盐胁迫显著诱导 AcoCPK8、AcoCPK10、AcoCPK15 和 AcoCPK16 上调表达, 而 AcoCPK1、AcoCPK5、AcoCPK7 及 AcoCPK18 的表达受到抑制, 推测 AcoCPKs 在盐胁迫应答中可能存在正、负调控机制。综上, AcoCPKs 基因家族在菠萝生长发育和逆境响应中表现出多样化功能, 为进一步解析其分子作用机制及遗传改良提供重要依据。

AcoCPKs 基因在菠萝的逆境响应中具有重要作用, 参与了植物对高温、低温及盐胁迫等环境胁迫的适应和调控。这些基因可能通过钙信号途径, 调节植物的水分和离子平衡、抗氧化反应、激素水平以及免疫反应等生理过程, 从而增强菠萝的抗逆性。本研究为后期深入探究 AcoCPKs 基

因在菠萝逆境胁迫响应中的分子机制提供重要的理论依据。

参考文献

- [1] FRANZ S, EHLERT B, LIESE A, KURTH J, CAZALE A C, ROMEIS T. Calcium-dependent protein kinase CPK21 functions in abiotic stress response in *Arabidopsis thaliana*[J]. Molecular Plant, 2011, 4(1): 83-96.
- [2] ZAFAR S, BILAL M, ALI M F, MAHMOOD A, KIJ SOMPORN J, WONG L S, HARSHINI M, KUMAR V, ALOTAIBI S S. Nano-biofertilizer an eco-friendly and sustainable approach for the improvement of crops under abiotic stresses[J]. Environmental and Sustainability Indicators, 2024, 24: 100470.
- [3] JIANG S, ZHANG D, WANG L, PAN J, LIU Y, KONG X, ZHOU Y, LI D. A maize calcium-dependent protein kinase gene, ZmCPK4, positively regulated abscisic acid signaling and enhanced drought stress tolerance in transgenic *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2013, 71: 112-120.
- [4] ZHANG M, LIU Y H, SHI H, GUO M L, CHAI M N, HE Q, YAN M K, CAO D, ZHAO L H, CAI H Y, QIN Y. Evolutionary and expression analyses of soybean basic Leucine zipper transcription factor family[J]. BMC Genomics, 2018, 19(1): 159.
- [5] NADARAJAH K K. ROS homeostasis in abiotic stress tolerance in plants[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(15): 5208.
- [6] WANG T, CHEN X Y, JU C F, WANG C. Calcium signaling in plant mineral nutrition: from uptake to transport[J]. Plant Communications, 2023, 4(6): 100678.
- [7] CHENG S H, WILLMANN M R, CHEN H C, SHEEN J. Calcium signaling through protein kinases. The *Arabidopsis* calcium-dependent protein kinase gene family[J]. Plant Physiology, 2002, 129(2): 469-485.
- [8] WERNIMONT A K, AMANI M, QIU W, PIZARRO J C, ARTZ J D, LIN Y H, LEW J, HUTCHINSON A, HUI R. Structures of parasitic CDPK domains point to a common mechanism of activation[J]. Proteins, 2011, 79: 803-820.
- [9] RAY S, AGARWAL P, ARORA R, KAPOOR S, TYAGI A K. Expression analysis of calcium-dependent protein kinase gene family during reproductive development and abiotic stress conditions in rice (*Oryza sativa* L. ssp. indica)[J]. Molecular Genetics and Genomics, 2007, 278(5): 493-505.
- [10] SAIJO Y, HATA S, KYOZUKA J, SHIMAMOTO K, IZUI K. Over-expression of a single Ca^{2+} -dependent protein kinase confers both cold and salt/drought tolerance on rice plants[J]. The Plant Journal, 2000, 23(3): 319-327.
- [11] BREDOW M, MONAGHAN J. Regulation of plant immune signaling by calcium-dependent protein kinases[J]. Molecular Plant-microbe Interactions, 2019, 32(1): 6-19.
- [12] CHRISTODOULOU J, MALMENDEL A, HARPER J F, CHAZIN W J. Evidence for differing roles for each lobe of the calmodulin-like domain in a calcium-dependent protein kinase[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2004, 279(28): 29092-29100.
- [13] DEKOMAH S D, BI Z, DORMATEY R, WANG Y, HAIDER F U, SUN C, YAO P, BAI J. The role of CDPKs in plant development, nutrient and stress signaling[J]. Frontiers in Genetics, 2022, 13: 996203-996203.
- [14] NURUZZAMAN M, MANIMEKALAI R, SHARONI A M, SATOH K, KONDOH H, OOKA H, KIKUCHI S. Genome-wide analysis of NAC transcription factor family in rice[J]. Gene, 2010, 465(1/2): 30-44.
- [15] BERRIDGE M J, LIPP P, BOOTMAN M D. The versatility and universality of calcium signaling[J]. Nature Reviews: Molecular Cell Biology, 2000, 1(1): 11-21.
- [16] SAITO S, UOZUMI N. Calcium-regulated phosphorylation systems controlling uptake and balance of plant nutrients[J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11: 44.
- [17] HETTENHAUSEN C, SUN G, HE Y, ZHUANG H, SUN T, QI J, WU J. Genome-wide identification of calcium-dependent protein kinases in soybean and analyses of their transcriptional responses to insect herbivory and drought stress[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 18973.
- [18] WEI S, HU W, DENG X, ZHANG Y, LIU X, ZHAO X, LUO Q, JIN Z, LI Y, ZHOU S, LIU G, ZHANG Z. A rice calcium-dependent protein kinase OsCPK9 positively regulates drought stress tolerance and spikelet fertility[J]. BMC Plant Biology, 2014, 14(1): 133.
- [19] 姚艳丽, 吴严, 李明伟, 付琼, 刘胜辉, 朱祝英, 张秀梅. 水心病菠萝果肉组织石蜡切片显微观察与分析[J]. 热带作物学报, 2023, 44(12): 2514-2519.
- YAO Y L, WU Y, LI M W, FU Q, LIU S H, ZHU Z Y, ZHANG X M. Paraffin section microscopic observation and analysis of pineapple flesh tissue with watercore disorder[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2023, 44(12): 2514-2519. (in Chinese)
- [20] WANG J P, XU Y P, MUNYAMPUNDU J P, LIU T Y, CAI X Z. Calcium-dependent protein kinase (CDPK) and CDPK-related kinase (CRK) gene families in tomato: genome-wide identification and functional analyses in disease resistance[J]. Molecular Genetics and Genomics, 2016, 291(2): 661-676.
- [21] 张丽娜, 荣昌鹤, 何远, 关琼, 何彬, 朱兴文, 刘佳妮, 陈

- 红菊. 常用系统发育树构建算法和软件鸟瞰[J]. 动物学研究, 2013, 34(6): 640-650.
- ZHANG L N, RONG C H, HE Y, GUAN Q, HE B, ZHU X W, LIU J N, CHEN H J. An overview of commonly used phylogenetic tree construction algorithms and software[J]. Zoological Research, 2013, 34(6): 640-650. (in Chinese)
- [22] SHIRVANI H, MEHRABI A A, FARSHADFAR M, SAFARI H, ARMINIAN A, FATEHI F, POURABOUGHADAREHA, POZAI P. Investigation of the morphological, physiological, biochemical, and catabolic characteristics and gene expression under drought stress in tolerant and sensitive genotypes of wild barley *Hordeum vulgare* subsp. Spontaneum (K. Koch) Asch. & Graebn[J]. BMC Plant Biology, 2024, 24(1): 214.
- [23] YANG Y Q, WANG Q L, CHEN Q, YIN X, QIAN M, SUN X, YANG Y. Genome-wide survey indicates diverse physiological roles of the barley (*Hordeum vulgare* L.) calcium-dependent protein kinase genes[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 5306.
- [24] ASANO T, TANAKA N, YANG G, HAYASHI N, KOMATSU S. Genome-wide identification of the rice calcium-dependent protein kinase and its closely related kinase gene families: comprehensive analysis of the CDPKs gene family in rice[J]. Plant and Cell Physiology, 2005, 46(2): 356-366.